



TITLE:

# 京都大学再生医科学研究所年報 1999

AUTHOR(S):

---

CITATION:

京都大学再生医科学研究所年報 1999. 京都大学再生医科学研究所年報  
2000, 2

ISSUE DATE:

2000-03-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/50572>

RIGHT:



ISSN 1344-8145

京都大学

# 再生医科学研究所年報

第2卷

1999

(平成11年度)

---

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences  
Kyoto University



## 目 次

<b>1. 巻頭言</b>	1
<b>2. 京都大学再生医科学研究所概要</b>	
2-1 沿革	2
2-2 職員数等	2
(1) 職員	2
(2) 大学院生・研究生・研修員	2
2-3 組織図	3
<b>3. 研究概要と研究業績</b>	
<b>生体機能学研究部門</b>	
細胞機能調節学分野	4
生体微細構造学分野	9
生体機能調節学分野	12
シミュレーション医工学分野	17
<b>生体組織工学研究部門</b>	
生体分子設計学分野	24
組織修復材料学分野	27
<b>再生統御学研究部門</b>	
発生分化研究分野	35
再生誘導研究分野	38
再生増殖制御学分野	42
再生免疫学分野	46
<b>生体システム医工学研究部門</b>	
医用システム工学分野	51
生体機械工学分野	54
生体システム制御学分野	59
<b>再生医学応用研究部門</b>	
組織再生応用分野	65
器官形成応用分野	71
臓器再建応用分野	77
<b>附属再生実験動物施設</b>	83
<b>4. 学術集会</b>	
4-1 研究発表会	86
4-2 セミナー	87
4-3 学術講演会・シンポジウム・研究会	88
<b>5. 協議員・教職員名簿</b>	92

# 1. 巻頭言

「基礎生物医学的研究によりヒト幹細胞の同定と分化、増殖のメカニズムの解明と実施に加えて、生体の複雑系を念頭に入れて、工学的技術と手法を導入し再生増殖の場を生体内に組み込み、臨床応用をめざした基盤研究を構築する」との使命で本研究所が誕生し、2年目を終える。

この間、日本の生体材料学をリードし、tissue engineering という学問を日本で実行して来られた生体材料学分野、筏 義人教授が退官された。本研究所の前身の一つである医用高分子研究センター、生体医療工学研究センターの歴史を築いて来られ、本研究所の改組、設立に尽力された功は大なるものであった。

また、生体システム制御学分野、和田洋巳助教授は京都大学医学研究科呼吸器外科教授に選任され、すでに活躍中である。

設立時、空席となっていた、生体機能調節学分野に坂口志文教授を選出し、組織修復材料学分野に岩田博夫教授を、また筏 義人名誉教授の後任として、生体材料学分野に田畑泰彦教授を選出した。現在、再生増殖制御学分野、生体システム制御学分野の選考も進行中で、今夏には全分野が充足され、本格的に研究所としての活動が有機的に始まる。

平成11年度の大きな行事は、12月10、11日の2日間にわたり、外部評価を受けたことである。研究所設立2年目という短い時点で、外部評価を受けることは、本研究所が従来にはなかった基礎生物系、工学系、臨床医学系の多領域の研究者が一堂に会し、最終目標である再生医学の臨床応用を目指す新企画であることから、初期の段階での心向性が極めて重要であり、この時点での外部評価による批判と助言から、設立理念に合致すべく軌道修正の機会とすることが目的であった。また、目的指向型の研究所の構想と、それを維持するために研究所としての環境づくりに役立たせたいとの思いもあった。今回、各領域の専門家から総合的また個別的にいただいた評価を真摯に受けとめ対応を急ぎたい。

国家的プロジェクトである「ミレニアム・プロジェクト」の中、再生分野で本研究所が中心的役割を演じるものと考えていたが、やや出遅れの観があり、これも早急に対応する必要がある。

現実的には、未来開拓学術研究推進事業の一つとして中辻憲夫教授を中心とする「分化プログラム制御による組織再生と構築に関する研究」が指定を受けたが、これを発展させ「霊長類ES細胞研究開発部門」「幹細胞分化制御研究開発部門」「幹細胞加工研究開発部門」の開設を企画したい。その為には外部評価でも強調されたごとく、研究棟の新営が急務であり努力する。

研究所のPRとして2000年7月21日～8月6日に東京ビッグサイトで開催される「21世紀夢の技術展」に展示する。費用は文部省により予算化されている。

平成12年3月

所長 山岡義生



## 2. 京都大学再生医科学研究所概要

### 2-1 沿 革

本研究所は、平成10年4月9日に設置された。その前身である胸部疾患研究所は、昭和16年3月に「結核の予防及び治療」を主軸とする結核研究所として設置され、昭和42年6月には結核胸部疾患研究所に名称変更、さらに昭和63年4月には「胸部疾患に関する学理及びその応用の研究」を目的とした胸部疾患研究所への全面改組が行われたが、胸部疾患に関する研究・治療を取り巻く社会的要請の変化から、胸部疾患研究所は57年間にわたる使命を終え、平成10年度より、同研究所基礎系分野及び臨床系分野の一部を人工臓器の研究・開発に関して顕著な業績を挙げて来た生体医療工学研究センターと統合し、さらに実地臨床医学を行う医学研究科との協力により、「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」を目的とする再生医科学研究所に改組・転換された。

改組・転換に伴い、胸部疾患研究所の臨床系分野の一部と研究所附属病院は、大学院医学研究科・医学部並びに医学部附属病院へそれぞれ引き継がれた。

本研究所は、生体機能学、生体組織工学、再生統御学、生体システム医工学、再生医学応用の5大研究部門（19研究分野、3客員分野）と附属再生実験動物施設で組織され、疾患によって侵された臓器や組織を自己組織の再生過程を通じて構築された新たな組織と入れ換える再生医科学の開発を目指している。

### 2-2 職 員 数 等

#### (1) 職 員 （平成12年3月1日現在）

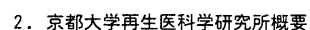
区 分	教 授	助 教 授	助 手	計
定 員	18 (2) <1>	17 (1)	5	40 (3) <1>

( ) は国内客員で外数

< > は外国人客員で外数

#### (2) 大学院生・研修員・研究生等 （平成12年3月1日現在）

大 学 院 生	研 究 生	研 修 員	外国人共同研究者
50	21	2	4





### 3 研究概要と業績

#### 生体機能学研究部門

##### 細胞機能調節学分野

##### Department of Molecular and Cellular Biology

#### 【研究概要】

細胞機能調節学分野においては、ストレス応答とストレス蛋白質／分子シャペロンの機能を中心に研究を進めている。中でも、コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 の機能と発現に関する研究は、当研究分野の中心課題である。

HSP47 は、コラーゲンに結合能を持ったストレス蛋白質であり、小胞体とゴルジ間をシャトルのように往復しながら、プロコラーゲンの合成や分泌に関わっている、基質特異的分子シャペロンである。HSP47 は機能的にコラーゲンと関係しているだけでなく、一方で常にコラーゲンの発現と相関していることが、明らかにされている。細胞レベルだけでなく、ラットに四塩化炭素を与える肝繊維症モデルによって、正常なラット肝においては HSP47 もコラーゲンもほとんど合成されていないが、繊維症が進行するとともに、HSP47 もコラーゲン（Ⅰ型およびⅢ型）も劇的に誘導されることが示され、肝繊維症の進行にも HSP47 が重要な関わりを持っていることが示唆された。最近、腎の繊維化にも HSP47 が関与している可能性が明らかになってきた。またマウス発生の各時期に HSP47 とコラーゲンの発現を調べると、両者は空間的にも時間的にも一致して発現していることが明らかになっている。

昨年度に引き続き、HSP47 の機能に関する研究を進展させた。

昨年度、HSP47 遺伝子のノックアウトに成功し、HSP47 欠損マウスは、コラーゲンの分子異常を引き起こして、10日目以降で、胎生致死になり、HSP47 がマウスの発生に必須の遺伝子であることを明らかにした。今年度、さらに組織レベルでの異常を詳細に検討した結果、Ⅰ型コラーゲンの異常を反映して、組織中にコラーゲン繊維束がほとんど見られないこと、Ⅳ型コラーゲンの異常を反映して、基底膜がずたずたに破壊されていることが明らかになった。基底膜の形成にとって HSP47 が必須の役割を担っているという事実は、発生、再生という現象に HSP47 がまた必須の役割を担っていることを示唆しており、基底膜を介した再生現象の制御という観点から、研究を進めていく必要がある。また、HSP47 を欠失した細胞系も樹立することができたので、この細胞を用いて、どのような分子機構でコラーゲンの正常な分泌へ導いているのかについて、分子レベルでの研究を進展させたい。

一方、HSP47 遺伝子の 1 つの allele だけを欠失したヘテロマウスは、一見正常に発育する。しかし、組織中の HSP47 の蛋白量は、野生型の半分以上であった。このようなヘテロマウスにどのような異常が見られるのか、また、各種ストレスが加わったとき、このようなヘテロマウスの応答はどうなるのかなどについても、今後の研究課題である。

昨年、HSP47 の認識するコラーゲン側の構造を明らかにした。(Gly-Pro-Pro) のリピートからなるコラーゲン様配列を HSP47 が認識することが明らかになった。このようなモデルペプチドへの HSP47 の結合を調べる過程で、今年度さらに興味深い、HSP47 の基質からの解離機構が明らかになった。すなわち、このモデルペプチドの Y 位の Pro が水酸化されることにより、HSP47 が解離することが明らかになったのである。Pro の水酸化は、プロコラーゲンの成熟の過程でもっとも重要な翻訳後修飾である。水酸化されることによって、コラーゲンは強固な 3 本鎖を

形成し、プロテアーゼ処理に耐性を獲得する。HSP47 が水酸化によって解離するという現象は、分子が成熟すると解離するという一般的な分子シャペロンの性質ともよく合致するものであり、HSP47 の分子シャペロンとしての役割を強く示唆するものである。

HSP47 に結合する因子を酵母の two hybrid 法によって調べた結果、新規のコラーゲン様蛋白質が 2 種類、ユビキチン様蛋白質が 1 種類クローニングされた。これらの機能について、現在研究を進めている。また、新たな小胞体中のストレス誘導性の蛋白質のクローニングにも成功し、この新規シャペロン様蛋白質の機能解析も進めている。

The major topics in the Department of Molecular and Cellular Biology is to study the stress response and the regulation and function of molecular chaperone/stress proteins.

We found and cloned the gene of a novel stress protein HSP47 which resides in the endoplasmic reticulum (ER) and is assumed to act as a collagen-specific molecular chaperone in the pathway of collagen biosynthesis, processing and secretion. HSP47 specifically and transiently binds to various types of collagens in the ER. In addition to the binding specificity to collagen, the expression of HSP47 is always closely correlated with those of collagens during the normal development of mouse embryo as well as in the pathological conditions including liver and renal fibrosis.

This year, we have made three major progresses on HSP47 study. First, we have succeeded in making knockout mice lacking *hsp47* gene, which resulted in causing the embryonic lethality at 10.5 dpc in *hsp47* homozygotic mice. In these homozygotic mice, the maturation of type I collagen was abnormal and the immature form of procollagen accumulated in the tissues. Thus, collagen fibrils in mesenchymal tissues were hardly observed in homozygous mice. The processing of type IV procollagen was also impaired, and basement membranes were discontinuously disrupted between the epithelial and mesenchymal tissues. This is the first finding revealing that the knockout of a chaperone protein causes the abnormality in molecular maturation of its substrate.

We have also revealed a novel dissociation mechanism of HSP47 from its substrate, collagen, and the regulatory mechanism of tissue-specific expression of HSP47. HSP47 binds to the collagen-model peptides consisting of (Gly-Pro-Pro) repeats, but did not bind to those peptides when the third position proline is hydroxylated. This prolyl 4-hydroxylation is the most important post-translational modification of procollagen, and after the hydroxylation, the triple helix of procollagen become more compact and to be resistant to protease digestion. This suggests that HSP47 binds to immature procollagen molecules, but it dissociates from the substrates once the procollagen become mature. This is consistent to the notion of general molecular chaperones.

Thus, HSP47 is confirmed to be an essential molecule for the normal mouse development and for the correct molecular maturation of procollagens. HSP47 is thought to be important molecule for the regeneration of mammalian tissues.



## 【業績目録】

### ● 誌上発表 ●

#### 1) 原著論文

- Reactive Oxygen Species Play an Important Role in the Activation of Heat Shock Factor 1 in Ischemia-Reperfused Heart. J. Nishizawa, A. Nakai, K. Matsuda, T. Ban, K. Nagata. *Circulation* 99(7):934-941, 1999.
- Separate cis-acting DNA elements control cell type- and tissue-specific expression of collagen-binding molecular chaperone HSP47. H. Hirata, I. Yamamura, K. Yasuda, A. Kobayashi, H. Tada, M. Suzuki, K. Hirayoshi, N. Hosokawa, K. Nagata. *J. Biol. Chem.* 274(50): 35703-35710, 1999.
- Substrate recognition of collagen-specific molecular chaperone HSP47: Structural requirements and binding regulation. T. Koide, S. Asada, K. Nagata. *J. Biol. Chem.* 274(49):34523-34526, 1999.
- The mammalian HSF4 gene generates both an activator and a repressor of heat shock genes by alternative splicing. M. Tanabe, N. Sasai, K. Nagata, X-D. Liu, P.C.C. Liu, D.J. Thiele, A. Nakai. *J. Biol. Chem.* 274(39):27845-27856, 1999.
- The human genome has a functional hsp47 gene (CBP2) and pseudogene (pshsp47). N. Nagai, T. Yoriyoshi, N. Hosokawa, K. Nagata. *Gene* 227(2):241-248, 1999.
- Effect of HSP47 on prolyl 4-hydroxylation of collagen model peptides. S. Asada, T. Koide, H. Yasui, K. Nagata. *Cell Struct. Funct.* 24(4):187-196, 1999.
- HSF3 is a major heat shock responsive factor during chicken embryonic development. Y. Kawazoe, M. Tanabe, N. Sasai, K. Nagata, A. Nakai. *Eur. J. Biochem.* 265(2):688-697, 1999.
- Ubiquitous and cell-specific members of the avian small heat shock protein family. Y. Kawazoe, M. Tanabe, A. Nakai. *FEBS Letters* 455:271-275, 1999.
- Enhancement of secretion of human procollagen I in mouse HSP47-expressing insect cells. M. Tomita, K. Yoshizato, K. Nagata, T. Kitajima. *J. Biochem.* 126(6):1118-1126, 1999.

#### 2) 著書・総説

- タンパク質の動態 永田和宏『分子生物学』(柳田充弘, 西田栄介, 野田 亮編) 東京科学同人 pp. 143-161, 1999.
- HSFファミリー 中井 彰『BioScience用語ライブラリー転写因子』(田村隆明, 山本雅之, 安田國雄編) 羊土社 pp. 126-127, 1999.
- Regulation of heat shock transcription factors by hypoxia or ischemia/reperfusion in the heart and brain. J. Nishizawa, K. Nagata, Handbook of Experimental Pharmacology in "Stress Proteins" Volume 136 (Ed. Latchman. D.S.) Springer-Verlag 1999, pp.201-224.
- Dynamics and regulation of the stress response M. Yoshida, T. Endo, K. Ito, N. Hosokawa, K. Nagata Meeting report on stress response and molecular chaperones at Kyoto. *Cell Stress & Chaperones*. 4(1):66-74, 1999.
- 分子シャペロンの基礎と病態—HSP47を一例として— 永田和宏 *Medical Tribune 特別企画* 28, 1999. (第72回

日本生化学会シンポジウムー分子シャペロンと病態 )

シャペロンの散歩道 永田和宏 CHAPERONE NEWSLETTER 4 : 2-6, 1999.

3年目の特定領域研究に向けて 永田和宏 CHAPERONE NEWSLETTER 5 : 1-2, 1999.

シャペロンの散歩道 永田和宏 CHAPERONE NEWSLETTER 5 : 2-3, 1999.

CSF編集委員長をお引き受けして 永田和宏 細胞生物 10(3): 15, 1999.

ストレス応答系の発現制御機構 (概説) 永田和宏 蛋白核酸酵素特集「環境応答・適応の分子機構」共立出版 pp. 2432-2433, 1999.

高等動物における熱ショック応答のシグナル伝達機構 田辺真佐子, 中井 彰 蛋白核酸酵素特集「動物における環境適応の分子機構」ストレス応答系の発現制御機構: 2434-2441, 1999.

New aspects in the vertebrate heat shock factor system. Hsf3 and Hsf4. A. Nakai. Cell Stress & Chaperones 4(2):86-93, 1999.

若手研究者によるワークショップ「分子シャペロンから見てきたCell Biology」レポート 久保田広志, 黒川洋一, 小出隆規 CHAPERONE NEWSLETTER 4 : 7-9, 1999.

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

Regulation of the activation of avian heat shock transcription factor. A. Nakai, Y. Kawazoe, M. Tanabe. Cold Spring Harbor Meeting (1999.9.1.-5.Cold Spring Harbor)

活性型熱ショック転写因子HSF1による精子形成の阻害 中井 彰, 鈴木 操, 田辺真佐子 第22回日本分子生物学会年会 (1999.12.9. 福岡)

小胞体ストレスで誘導される, マウス小胞体 $\alpha$ -mannosidase様蛋白質のクローニング 細川暢子, 和田郁夫, 長谷川聖高, 頼藤徹也, 永田和宏 第22回日本分子生物学会年会 (1999.12.9. 福岡)

コラーゲン特異的シャペロンHSP47の基質認識機構—Designed combinatorial peptide libraryを用いた酵母 two-hybrid system による検討— 小出隆規, 麻生晶子, 頼藤徹也, 永田和宏 第46回マトリックス研究会大会 (1999.6.8. 瀬戸)

コラーゲン特異的分子シャペロンHSP47によって認識されるコラーゲン様ペプチドのスクリーニングとその構造 小出隆規, 麻生晶子, 頼藤徹也, 永田和宏 第52回日本細胞生物学会大会 (1999.8.28. 東京)

コラーゲン特異的分子シャペロンHSP47とコラーゲンモデルペプチドとの結合の解析 小出隆規, 浅田真一, 永田和宏 第36回ペプチド討論会 (1999.10.21. 京都)

HSP47ノックアウトマウスの解析 永井尚子, 細川昌則, 糸原重美, 細川暢子, 永田和宏 第46回マトリックス研究会大会 (1999.6.8. 瀬戸)

HSP47ノックアウトマウスの解析 永井尚子, 細川昌則, 糸原重美, 安達栄治郎, 細川暢子, 永田和宏 第52回日本細胞生物学会大会 (1999.8.27. 東京)

コラーゲンの分子成熟に果たすHSP47の役割 永井尚子, 細川昌則, 糸原重美, 安達栄治郎, 細川暢子, 永田和宏 第22回日本分子生物学会年会 (1999.12.8. 福岡)

コラーゲンモデルペプチドのプロリン4-水酸化に対すHSP47の影響. 浅田真一, 小出隆規, 安井裕之, 永田和宏 第72回日本生化学会大会 (1999.10.8. 横浜)



新規ユビキチン様タンパク質M4のクローニングと解析 松田美穂, 小出隆規, 頼藤徹也, 永田和宏 第22回日本分子生物学会年会 (1999.12.7. 福岡)

マウス熱ショック転写因子HSF4のin vivoにおける性質 田辺真佐子, 笹井紀明, 中井 彰 第22回日本分子生物学会年会 (1999.12.9. 福岡)

HSP47の組織特異的発現は2つのシスエレメントにより制御されている 平田普三, 山村 功, 安田邦彦, 小林明央, 多田昇弘, 鈴木 操, 平芳一法, 細川暢子, 永田和宏 第52回日本細胞生物学会大会(1999.8.29. 東京)

ラット硬化性腹膜炎モデルにおけるHSP47アンチセンス核酸の効果 平原一郎, 梅山一大, 山本 敬, 浦上研一, 細川暢子, 永田和宏 第52回日本細胞生物学会大会 (1999.8.27. 東京)

天然型リゾチームを特異的に認識するファージ抗体2A3の解析 武田周子, 浅田真一, 永田和宏, Winter Greg, 菊池正和 第22回日本分子生物学会年会 (1999.12.7. 福岡)

## 2) 特別講演・シンポジウム等

Regulation of collagen biosynthesis by collagen-specific molecular chaperone: HSP47. K. Nagata, T. Koide, N. Nagai, H. Hirata, T. Yorifuji, N. Hosokawa Satellite Symposium on Trends in Collagen (1999.1.25.Chennai, India)

Functional Analysis of HSP47, a Collagen-specific Molecular Chaperone in the ER: Binding Motif on Collagen and Collagen-related Molecules. K. Nagata. Keystone Symposia on Molecular & Cellular Biology (X4) " Protein Folding, Modification and Transport in the Early Secretory Pathway " (1999.4.15. Copper Mountain, Colorado)

Collagen-specific molecular chaperone HSP47: Recognition of the substrates and disruption of the gene. K. Nagata, T. Koide, N. Nagai, S. Asada, N. Hosokawa. European Research Conferences on Biology of Molecular Chaperones : The role of molecular chaperones in protein biogenesis,transport and misfolding (1999.5.25. Acquafredda di Maratea, Italy)

Why is HSP47 so unique in the chaperone systems ? K. Nagata. Mini Symposium in Max Plank Institute (1999.5.31. Martinsried, Germany)

Regulation and function of collagen-specific molecular chaperone HSP47. K. Nagata, N. Nagai, T. Koide, H. Hirata, N. Hosokawa N. 4th International Shock Congress (1999.6.16. Philadelphia, Pennsylvania)

Collagen-specific molecular chaperone HSP47: Role in the processing of procollagen and development of the mouse embryo. K. Nagata. CDBRB-NIH Seminar (1999.7.23. Bethesda, Maryland)

Transcriptional regulation of HSP47, a collagen-specific molecular chaperone that is essential for mouse development. K. Nagata. The Gordon Research Conference on Collagen (1999.7.27. New London, New Hampshire)

Essential role of HSP47, a collagen-specific molecular chaperone, for the development of mouse embryo. K. Nagata. 6th IUBMB Seoul Conference on Molecular and Cellular Networks-Life Science for the Next Millennium- (1999.10.12. Seoul, Korea)

分子シャペロンとしての熱ショック蛋白質研究の展開 永田和宏 第72回日本細菌学会総会 シンポジウム VI.熱ショック蛋白質研究の多面的展開-基礎から臨床へ- (1999.3.25. 東京)

分子シャペロンの機能と病態 永田和宏 教育講演 第25回日本医学会総会 (1999.4.3. 東京)

分子シャペロンによる細胞機能制御 永田和宏 岡山大学特別講義 (1999.6.28. 岡山)

HSP47によるコラーゲンの発現と機能の制御 永田和宏 ECM Society 特別セミナー (1999.6.28. 岡山)

コラーゲン特異的分子シャペロンHSP47：発現調節・基質認識・ロックアウト 永田和宏 第51回HSP研究所セミナー (1999.7.21. 京都)

分子シャペロンの基礎と病態：HSP47を一例として 永田和宏 第72回日本生化学会大会 シンポジウム (1999.10.9. 横浜)

永田和宏：分子シャペロン（ストレスタンパク質）機能. 愛知医科大学大学院特別講義 (1999.11.30. 愛知)

コラーゲン特異的分子シャペロンHSP47：ロックアウトマウスの解析と基質認識のメカニズム 小出隆規, 永井尚子, 永田和宏 第22回日本分子生物学会年会 シンポジウム (1999.12.7. 福岡)

HSP47ロックアウトマウスとコラーゲン合成の異常 永井尚子 公開シンポジウム「ストレス蛋白質と病態」小胞体分子シャペロンと品質管理機構 (1999.12.18. 京都)

熱ショック転写因子活性化における核移行シグナルの役割 川添嘉徳, 田辺真佐子, 中井 彰 第22回日本分子生物学会年会 ワークショップ (1999.12.8. 福岡)

---

## 生体微細構造学分野 Department of Ultrastructural Research

### 【研究概要】

本研究分野では、以下のような研究を行っている。

肺上皮細胞の分化に関する研究 肺胞Ⅱ型上皮細胞は、肺サーファクタントの合成・分泌を司ると同時に、肺胞の大部分を被覆するⅠ型上皮細胞の前駆細胞として、肺胞の正常組織構築を維持するのに重要である。Ⅰ型上皮細胞の基底膜にはⅡ型上皮細胞の基底膜に比べて、高硫酸化されたヘパラン硫酸が多いことが示されており、これらの細胞ではその合成に相違があると考えられる。肺胞Ⅱ型上皮細胞は、培養系では急速にその分化形質であるサーファクタント合成能力を失い、伸展・扁平化してⅠ型上皮様細胞になる。このモデルでは、硫酸基転移を阻害するクロレートが、培養肺胞Ⅱ型上皮細胞の伸展を有意に阻害することから、Ⅰ型上皮細胞への転換にはプロテオグリカン等の硫酸化が影響すると推定された。そこで、種々の条件でⅡ型上皮細胞を培養して検討すると、Ⅰ型上皮細胞のマーカーである T1a は細胞密度にかかわらず発現するが、ヘパラン硫酸の硫酸転移酵素である N-deacetylase/sulfotransferase (NST) は低細胞密度の培養では発現し、細胞の伸展の限られる高密度培養では発現がみられなかった。NST は細胞の伸展に関わると推測され、その機能と発現誘導の機序について検討を始めている。

(文責 鈴木)

肺表面活性物質のアポ蛋白の機能と肺疾患への関与 肺サーファクタントに含まれる疎水性アポ蛋白BとCは、表面活性の発現には不可欠であるが、人工サーファクタントでの組成と活性の変化、その応用について基礎的検討を行っている。また、サーファクタント様物質が蓄積する肺胞蛋白症では、脱パルミチル化アポ蛋白Cの2量体によるマクロファージの傷害のみならず、脱パルミチル化による脂質との相互作用の変化がⅡ型上皮による脂質再利用にも影響し、本症の病態成立に関与する可能性がある。

(文責 鈴木)



遺伝子の転写調節機構に関する研究 Paused polymerase はショウジョウバエ hsp70 で最初に発見された現象である。この遺伝子では、転写が促進されるストレス条件下以外の時には、RNA polymerase が転写開始点から数十 bp 進んだところで、その伸展反応を停止する。この状態の RNA polymerase を paused polymerase と呼ぶ。この状態はいわゆる preinitiation complex が形成され、転写の伸展を待つばかりの状態に凍結したものである。preinitiation complex の成立には、TATA 配列の関与が示されているが、TATA less プロモーターの場合、+35 領域に存在する DPE (Down Promoter Element) の関与が想定されている。我々はそれぞれの領域に変異を導入した hsp70 遺伝子を用いて、それぞれの領域が paused polymerase の成立に関与する事を明らかにした。つまり、この二つの領域は単独でも遺伝子の転写を可能にするが、それぞれの配列が共役的に作用して Paused polymerase の成立に関与しているのである。現在、TATA 結合因子である TBP と、DPE 領域に結合する因子として知られる TAF (TBP associated factor) 60 に焦点を絞り、それぞれの因子の機能を解析している。

また、Paused polymerase の生物学的意義について、遺伝子活性化の初期速度を上げるに貢献していることを明らかにしてきた。通常の遺伝子の活性化にはいわゆるアクチベーターの関与が示唆されているが、この活性化には、さらに急速に反応する因子が必要であると思われる。そこで、その因子の同定を目指し、システムの構築を図っている。

(文責 平芳)

In this department the following researches are in progress:

Transdifferentiation of alveolar epithelial cells Alveolar type II epithelial cells are important for the maintenance of normal structure of lungs, as surfactant-producing cells and as progenitor cells for type I cells, which cover over 90% of alveolar surface. It has been shown that the basement membrane beneath type I cells contains highly sulfated proteoglycans compared to that beneath type II cells and it is suggested that proteoglycan synthesis is differently regulated between these cell types. Type II cells lose their phenotypic expression of synthesis of surfactant and become attenuated to express type I cell marker, T1a. It is suspected that the complete transdifferentiation of type II cells to type I cells requires highly sulfated proteoglycans, since sodium chlorate inhibited spreading of type II cell during culture. We found that expression of T1a mRNA was not dependent on cell density but NST mRNA was not expressed in high cell density culture. We are now investigating the factors inducing expression of NST.

Function of surfactant apoproteins and their relationship to lung diseases Hydrophobic surfactant apoproteins (SP) B and C are inevitable for the high surface activity of surfactant. The relationship between composition and surface activity of reconstituted artificial surfactants and its application to experimental lung diseases are studied. In pulmonary alveolar proteinosis, in which insoluble surfactant-like material accumulates in the lung, not only harmful effects on macrophages of dimeric form of depalmitoylated SP-C but also disturbance in recycling of lipids by type II epithelial cells through loss of interaction of depalmitoylated SP-C with lipids are suspected to relate to the pathogenesis of this disease.

Mechanism of gene transcription In Drosophila cell, an RNA polymerase is present on the 5' end of the uninduced hsp70 gene and is transcriptionally engaged but paused. In this state, the preinitiation complex has been already established. TATA element is a key molecule to establish the preinitiation complex. In TATA-less promoter, DPE (Down promoter element) located around +35 is considered to be a key molecule. I made a series of constructs with mutated TATA and DPE using hsp70 promoter. We showed that both sites have

a role to establish the paused polymerase. Both sites should work cooperatively to establish the paused polymerase. For further analyses, we focused on the function of TBP (TATA box binding protein) which binds to TATA and TAF (TBP associated factor) 60 binds to DPE.

We also showed the biological function of paused polymerase to accelerate the activation of gene transcription. Generally, activators make activation of gene transcription. In the gene with paused polymerase, however, molecule which is not included into general activators should be involved in the activation of gene transcription. We are making system to clarifying that molecule.

## 【業績目録】

### ◎ 誌上発表 ◎

#### 1) 原著論文

Experimental neonatal respiratory failure induced by lysophosphatidylcholine. effect of surfactant treatment.

Grossmann G, Tashiro K, Kobayashi T, Suzuki Y, Matsumoto Y, Waseda Y, Akino T, Curstedt T, Robertson B. J Appl Physiol 86(2): 633-640,1999.

Modified natural and synthetically reconstituted surfactant therapies for acute lung injury caused by endotoxin in rats. Tashiro K, Nishizuka K, Matsumoto Y, Ohta K, Suzuki Y, Kobayashi T. Acta Anaesthesiol Scand 43(8):821-828, 1999.

再構築表面活性物質における脂質およびアポ蛋白の組成と分布が表面活性に及ぼす影響. 鈴木康弘, 李 中原, 田代勝巳, 小林 勉. 日本界面医学会雑誌 30:45-50,1999.

Mitochondrial injuries in rat lungs preserved for 17h: An ultrastructural study. Ueda M, Kosaka S, Hirata T, Fukuse T, Suzuki Y, Hitomi S, Wada H. Eur. Surg. Res. 31:162-172, 1999.

Mouse senile amyloid deposition is suppressed by adenovirus-mediated overexpression of amyloid-resistant apolipoprotein A-II. Chiba T, Kogishi K, Wang J, Xia C, Matsushita T, Miyazaki J, Sato I, Hosokawa M, and Higuchi K. Am J Pathol 155:1319-1326, 1999.

Genetic typing of the senescence-accelerated mouse (SAM) strains with microsatellite markers. Xia C, Higuchi K, Shimizu M, Matsushita T, Kogishi K, Wang J, Chiba T, Festing MF, Hosokawa M. Mamm Genome 10(3):235-238, 1999.

Identification of peak bone mass QTL in a spontaneously osteoporotic mouse strain. Shimizu M, Higuchi K, Bennett B, Xia C, Tsuboyama T, Kasai S, Chiba T, Fujisawa H, Kogishi K, Kitado H, Kimoto M, Takeda N, Matsushita M, Okumura H, Serikawa T, Nakamura T, Johnson TE, Hosokawa M. Mamm Genome 10(2):81-87, 1999.

Separate cis-acting DNA elements control cell type-and tissue-specific expression of collagen-binding molecular chaperone HSP47.. Hirata H, Yamamura I, Yasuda K, Kobayashi A, Tada H, Suzuki M, Hirayoshi K, Hosokawa N, Nagata K. J Biol Chem (in press).

## 2) 著書および総説

Nuclear run-on assays: assessing transcription by measuring density of engaged RNA precursors. Hirayoshi K, and Lis JT. Methods in Enzymol. 305:351-362 1999.

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

肺蛋白症患者SP-Cは肺泡II型細胞への脂質取り込みを促進しない. 鈴木康弘, 李 中原. 第39回日本呼吸器学会総会 (1999.3.25. 横浜)

肺表面活性物質アポ蛋白C(SP-C)の脱パルミチル化による脂質輸送能の低下. 鈴木康弘, 李 中原. 第88回日本病理学会総会 (1999.4.6. 東京).

肺II型上皮細胞への脂質および蛋白症患者SP-Cの取り込みにおける乖離. 鈴木康弘, 李 中原, 田代勝巳, 小林 勉. 第35回日本界面医学界総会 (1999.10.9. 東京)

培養肺II型上皮細胞におけるN-および3-O-スルフトランスフェラーゼの発現と調節. 李 中原, 平芳一法, 鈴木康弘. 第35回日本界面医学界総会 (1999.10.9. 東京)

マウス老化アミロイドーシス(AApoA II)の伝播機構. 樋口京一, 中村明宏, 千葉卓哉, 傳 麗, 松下隆壽, 小岸久美子, 夏 晨, 細川昌則, 森 政之. 第88回日本病理学会総会 (1999.4.6. 東京)

マウス老化アミロイドーシス (AApoA II) の伝播機構-1: アミロイド線維核の経伝播. 樋口京一, 森 政之, 千葉卓哉, 中村明宏, 傳 麗, 郭占軍, Xing Yanming, 是永龍巳, 松下隆壽, 小岸久美子, 夏 晨, 細川昌則. 第22回日本基礎老化学会 (1999.6. 京都)

マウス老化アミロイドーシス (AApoA II) 伝播機構-2: 糞を介したアミロイド線維核伝播の検証. Xing Yanming, 中村明宏, 小岸久美子, 細川昌則, 樋口京一. 第22回日本基礎老化学会 (1999.6. 京都)

SAMP1の促進老化と apoA-II 遺伝子:B型 apoA II は促進老化を改善できない. 王 静, 小岸久美子, 夏 晨, 千葉卓哉, 中村明宏, 森 政之, 細川昌則, 樋口京一. 第15回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会 (1999.7. 徳島)

マウス老化アミロイドーシス伝播における糞の役割. 機構-1: アミロイド線維核の経伝播. Xing Yanming, 中村明宏, 是永龍巳, 小岸久美子, 松下隆壽, 細川昌則, 樋口京一. 第15回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会 (1999.7. 徳島)

## 生体機能調節学分野 Department of Experimental Pathology

### 【研究概要】

#### (1) 免疫寛容の基礎的研究

免疫系は, 非自己抗原に対して免疫応答を示すが, 正常自己構成成分に対しては応答しない. この免疫自己寛

容の基礎的メカニズム、およびその破綻としての自己免疫病の原因・発症機構を研究している。研究の中心となる知見は、正常動物から特定のT細胞サブポピュレーションを一定期間除去すると、ヒトの自己免疫病（例えばインシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、胃炎／悪性貧血等）と免疫病理学的に酷似した病変が自然発症してくることである。この免疫制御能を持つT細胞群の免疫学的特性を試験管内で解析した結果、それらは、T細胞抗原レセプターおよび副刺激分子CTLA-4を介する刺激を受けると、他のT細胞の活性化・増殖を細胞接触性に強力に抑制すること、一方この制御性T細胞自体は刺激に対して増殖反応を示さない、いわゆるアナジーの状態にあり、この状態を破ると同時に抑制能も失われ、自己免疫病が誘導されうること示した。さらに、正常胸腺は、この制御性T細胞サブポピュレーションを機能的に成熟した形で産生することを見出した。以上の結果は、制御性T細胞の産生異常、末梢での数的低下、また機能異常の直接的結果として自己免疫病が発症する可能性を示すものである。現在、このT細胞による制御の分子的基础をさらに解明するため、抑制機能分子に対するモノクローナル抗体を作製し解析を進めている。

## (2) 腫瘍免疫、移植免疫の基礎的研究

近年、癌患者の腫瘍反応性リンパ球が認識する腫瘍抗原の解析が進み、そのような腫瘍抗原の半数以上が正常自己抗原であることが明らかとなった。特定のT細胞サブポピュレーションを操作して自己免疫応答を惹起できるとの我々の知見（上述）に基づき、このポピュレーションの除去により自家腫瘍に対して有効な免疫応答が誘導できるか検討している。その結果、特異的モノクローナル抗体の生体内投与により、このT細胞群を正常マウスから一定期間除去すると、様々な腫瘍のうち、約80%の腫瘍が拒絶された。さらに、正常マウス末梢リンパ球からこの制御性T細胞群を除去後、試験管内で培養するのみで、強力なナチュラルキラー細胞が容易に誘導出来るとの結果を得た。この結果は、免疫自己寛容の操作による新しい腫瘍免疫療法の可能性を意味する。一方、制御性T細胞による免疫自己寛容機構を操作することにより、移植臓器に対する安定・安全な免疫寛容を誘導できる可能性があり、研究を進めている。

## (3) 新しい動物モデルを用いた慢性関節リウマチ（リウマチ様関節炎）の原因・発症機構の研究

当研究室において、免疫病理学的にヒトのリウマチ様関節炎(RA)と酷似する慢性関節炎を自然発症するマウスモデルを確立した。この関節炎は、正常関節抗原を認識・攻撃するT細胞による自己免疫性関節炎である。その原因は、常染色体劣性遺伝を示す単一遺伝子の異常である。その遺伝的浸透度には、マウスの維持環境が大きく影響する。遺伝的異常、環境因子ともに発症に寄与する点で、ヒトのRAの良いモデルとなりうる。現在、この原因遺伝子の染色体上での位置を決定し、遺伝子の位置クローニングを目指している。

Our department studies: (i) the cellular and molecular basis of immunologic self-tolerance and the etiology of autoimmune disease; (ii) the strategy for eliciting effective immune responses to autologous tumor cells, or inducing immunologic tolerance to organ transplants, by manipulating the mechanism of immunologic self-tolerance; and (iii) the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis.

One aspect of immunologic self-tolerance (i.e., immunological unresponsiveness of the normal immune system to normal self-constituents) is maintained by a T cell-mediated dominant control of self-reactive T cells. We showed that elimination of a T-cell subpopulation expressing CD25, which constitutes 5-10% of the peripheral CD4+ T cells and less than 1% of CD8+ T cells in normal individuals, elicits various autoimmune diseases immunopathologically similar to human counterparts (e.g., insulin-dependent diabetes mellitus, autoimmune thyroiditis, and autoimmune gastritis with pernicious anemia). Recent functional

characterization of this immunoregulatory CD25+ 4+ T-cell population revealed that it potently suppressed the activation/proliferation of other T cells in a cell to cell contact manner on antigen-presenting cells when the population was stimulated through the T-cell antigen receptor and CTLA-4, a co-stimulatory molecule, although the CD25+ 4+ T cells themselves were anergic (i.e., non-proliferative) to the stimulation. Furthermore, breakage of the anergic state of the population simultaneously led to the abrogation of the suppression and, as a consequence, the development of autoimmune disease. The molecular basis of this suppressive activity and the anergic state is currently under investigation.

As an extension of this study, we then investigated whether manipulation of the CD25+ 4+ T-cell population can break immunological unresponsiveness to autologous tumor cells and evoke effective immune responses to them. Removal of the population for a limited period indeed led to the rejection of tumor cells in vivo. Furthermore, in vitro experiments showed that the removal elicited in vitro the spontaneous development of potent natural killer cells capable of killing a broad spectrum of syngeneic or allogeneic tumor cells. This novel way of evoking tumor immunity in vivo and in vitro would help to devise effective immunotherapy for cancer in humans.

We are also investigating the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis (RA) by analyzing a mouse model newly established in our department. We showed that the arthritis in this model was autoimmune and mediated by CD4+ self-reactive T cells, and that the cause of arthritis was an autosomal recessive abnormality of a single gene. We are currently attempting to locate the gene on mouse chromosomes. Our ultimate goal is to identify the gene, to determine how its abnormality leads to the activation of arthritogenic T cells, and to know how this arthritogenic process can be immunologically intervened in RA in humans.

## 【業績目録】

### ● 誌上発表 ●

#### 1) 原著論文

Autoimmunity and immunodeficiency: increased T-cell autoreactivity in the absence of CD40-CD40 ligand interactions. A. Kumanogoh, X. Wang, I. Lee, C. Watanabe, W. Shi, K. Yoshida, S. Habu, M. Itoh, N. Sakaguchi, S. Sakaguchi, and H. Kikutani, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. In press.

Role of genetic factors in organ-specific autoimmune diseases induced by manipulating the thymus/T cells, and not self-antigens. S. Sakaguchi, N. Sakaguchi. *Rev. Immunogenetics*. 2:147-153, 2000.

Induction of tumor immunity by removing CD25+ CD4+ T cells: a common basis between tumor immunity and autoimmunity. J. Shimizu, S. Yamazaki, S. Sakaguchi. *J. Immunol.* 163: 5211-5218, 1999.

Tumor rejection by in vitro administration of anti-CD25 (Interleukin-2 receptor  $\alpha$ ) monoclonal antibody. S. Onizuka, I. Tawara, J. Shimizu, S. Sakaguchi, T. Fujita, E. Nakayama, *Cancer Research*. 59: 3128-3133, 1999.

Breaking immunologic tolerance to tumor cells as a novel immunotherapy for cancer. S. Sakaguchi, T.



- Takahashi, J. Shimizu *In Cell Therapy*. Springer-Verlag, Berlin, 1999. In press.
- Thymus and autoimmunity: Production of CD25+ CD4+ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. M. Itoh, T. Takahashi, N. Sakaguchi, Y. Kuniyasu, J. Shimizu, F. Ohtuka, and S. Sakaguchi, *J. Immunol.* 162: 5317-5326, 1999.
- Virus and autoimmunity: Induction of autoimmune disease in mice by mouse T-lymphotropic virus (MTLV) destroying CD4+ T cells. S. S. Morse, N. Sakaguchi, and S. Sakaguchi, *J. Immunol.* 162: 5309-5316, 1999.
- Human CD4 residue Phe 43 is critical for repertoire development and maturation of class II MHC-restricted CD4 single positive lineage cells in vivo. T. Sakihama, M. E. Hunsicker, R. E. Hussey, and E. L. Reinherz, *Eur. J. Immunol.* 30:279-290, 2000.

## 2) 総説

- 自己免疫と腫瘍免疫に共通する免疫制御機構. 坂口志文, 高橋武司, 清水淳: 免疫学のニューフロンティア阿蘇シンポジウム1998, 南山堂, 161-169 1999.
- 免疫制御性CD25+T細胞による自己免疫抑制機構. 高橋武司, 坂口志文:Molecular Medicine (臨時増刊)「免疫1999-2000」, 170-178, 1999.
- CD25+CD4+T細胞の自己免疫反応抑制の機序. 高橋武司, 坂口志文: Annual Review 2000免疫 1 312-319 1999.
- 免疫寛容解除による抗腫瘍免疫誘導. 山崎小百合, 清水淳, 坂口志文: 医学の歩み. 190(2):150 1999.
- 自己免疫疾患とTh 1 細胞およびTh 2 細胞. 坂口志文, 戸田雅昭: 炎症と免疫. 7: 231-236, 1999.
- 慢性関節リウマチの新しいマウスモデルの確立とその発症機構. 坂口志文: 炎症と免疫. 7(4): 52-58 1999.
- 慢性関節リウマチのモデルマウス. 坂口教子, 坂口志文: BIO Clinica 14 (4),323-329 1999.
- RAを自然発症するSKGマウス. 坂口志文 リウマチ科. 22(2): 170-178 1999.
- 慢性関節リウマチ. 坂口教子, 坂口志文: Molecular Medicine. 36 (別冊) 15-19 1999.
- 自己免疫性関節炎自然発症マウス. 坂口志文: 最新医学「臨床遺伝学' 99」54 (増刊号) 254-261 1999.

## ◎ 学会等の講演 ◎

### 1) 学会・研究会発表

- CD25+T細胞除去による腫瘍免疫の誘導: 山崎小百合, 清水 淳, 西岡 清, 坂口志文 第58回日本癌学会(1999. 9.29-10.1. 広島)
- CD25+T細胞除去による腫瘍免疫の誘導と加齢の影響: 清水 淳, 山崎小百合, 坂口志文 第58回日本癌学会(1999.9.29-10.1. 広島)
- 抗マウスCD25(IL-2R $\alpha$ )モノクローナル抗体in vivo投与による抗腫瘍効果: 鬼塚正三郎, 俵 功, 清水 淳, 坂口志文, 藤田禎三, 中山睿一 第58回日本癌学会(1999.9.29-10.1. 広島)
- CD25+4+T細胞による自己寛容維持機構の分子的基础: 高橋武司, 田上智行, 坂口志文 Kyoto T Cell Conference (1999.10.8-9.)
- class II MHC結合能欠損mutantヒトCD4を発現するトランスジェニックマウス: 先浜俊子 Kyoto T Cell Conference (1999.10.8-9.)

免疫抑制性CD25T細胞クローンの樹立とその機能解析 清水 淳, 高橋武司, 山崎小百合, 坂口志文 第29回日本免疫学会(1999.12.1-3. 京都)

抗CD25抗体(PC61) in vivo投与による抗腫瘍効果の発現機構: 山崎小百合, 清水 淳, 西岡 清, 坂口志文 第29回日本免疫学会(1999.12.1-3. 京都)

CD25+4+T細胞による自己寛容維持機構の分子的基础: 高橋武司, 田上智行, 坂口志文 第29回日本免疫学会(1999.12.1-3. 京都)

慢性関節リウマチ自然発症モデルマウスSKGの胸腺細胞における, T細胞抗原レセプター発現レベルの抑制機構: 安達里子, 坂口教子, 坂口志文, 岩田 誠 第29回日本免疫学会(1999.12.1-3. 京都)

自己免疫性関節炎を自然発症するSKGマウスのT細胞機能異常の解析: 田上智行, 森泉栄子, 坂口教子, 坂口志文 第29回日本免疫学会(1999.12.1-3. 京都)

class II MHC結合能欠損mutantヒトCD4を発現するトランスジェニックマウス: 先浜俊子 第29回日本免疫学会(1999.12.1-3. 京都)

## 2) 講演・シンポジウム

Breaking immunologic tolerance to tumor cells as a novel immunotherapy for cancer, "Cell Therapy" Keio University Symposia for Life Sciences and Medicine: 坂口志文 (1999.1.21. 東京)

Autoimmune disease induced by manipulation of the T-cell immune system: Ionizing radiation as a cause of autoimmune disease, Radiation Effects Research Foundation Immunology Workshop "T-cell functions and disease development: Implications for an immunological study on the A-bomb survivors": 坂口志文 (1999.3.11. 広島)

Thymic and T-cell dependency of spontaneous rheumatoid arthritis-like disease in mice: Shimon Sakaguchi, The 3rd Korea-Japan Combined Meeting of Rheumatology (1999.5.20-21. Cheju shilla Korea)

リウマチ様関節炎自然発症マウスモデル: 坂口志文 第43回日本リウマチ学会総会 (1999.6.3-5. 札幌)

Immunologic self-tolerance maintained by naturally anergic/suppressive CD25+CD4+Tcell: Shimon Sakaguchi. T Lymphocytes-Structure and Function (1999.7.3-5. Oxford, UK)

アナジー抑制T細胞による末梢T細胞寛容の維持: 高橋武司 自己免疫研究会 (1999.7.3. 東京)

胸腺・T細胞の異常としての自己免疫病: 坂口志文 長崎大学 (1999.7.8. 長崎)

臓器特異的自己免疫症候群の原因と発症機構, 特に多腺性自己免疫症候群について: 坂口志文 第17回内分泌代謝サマーセミナー (1999.7.14-15. 静岡)

リウマチ様関節炎自然発症マウスモデルの滑膜炎について: 坂口志文 第20回日本炎症学会 (1999.7.15-16. 仙台)

腫瘍免疫と自己免疫の共通基盤について: 坂口志文 山梨医科大学 (1999.9.6. 山梨)

リウマチ様関節炎自然発症マウスモデル: 坂口志文 第2回比叡RAフォーラム (1999.9.18. 京都)

T cell-mediated dominant self-tolerance: Implications for autoimmunity and tumor immunity: Shimon Sakaguchi. Immunologic Tolerance (1999.9.30-10.3. Lisbon, Portugal)

リウマチ動物モデル: 坂口志文 第27回日本臨床免疫学会 (1999.10.6-8. 栃木)

リウマチ様関節炎自然発症マウスモデルにおける遺伝因子・環境因子の役割: 坂口教子 第27回日本臨床免疫学会 (1999.10.6-8. 栃木)

ヒトのリウマチ様関節炎と酷似した病変を自然発症するマウスモデルの確立: 坂口志文 新技術フェア

(1999.10.13-14. 東京)

新しいリウマチ疾患の動物モデル: 坂口教子 RAの病態と治療をめぐるシンポジウム (1999.11.21. 東京)

CD25+CD4+抑制性アナージックT細胞による免疫自己寛容の維持; その起源と抑制機構: 坂口志文 第29回日本免疫学会 (1999.12.1-3. 京都)

---

## シミュレーション医工学分野 Department of Medical Simulation Engineering

### 【研究概要】

本研究室では、研究生体組織と力学的に調和する生体材料や人工臓器の開発など生体機能の再生を目的とした診断・治療の支援を行うために、コンピュータ科学や材料工学の手法を用いて、以下のような基礎的ならびに応用的研究を行っている。

#### 1. 生体組織の力学的適応変形に関するシミュレーション

生体組織の力学的特性の解明を基本として、特に骨のモデリングならびにリモデリング現象など生体組織の力学的合理性の適応変形過程などについて数値シミュレーションを行っている。その結果、等応力分布あるいは等歪エネルギー密度分布などの制約関数に従って、各種骨組織の形態が形成されていることが示唆され、この制約の下に、生体組織と力学的に調和する人工歯根のデザインの創生を試みている。

(工業技術院名古屋産業技術研究所との共同研究)

#### 2. 人工歯根周囲における歯根膜の再生

現在の人工歯根は、天然歯根のように歯根膜を持たず、直接顎骨に固定させるので、咀嚼時の動的荷重が緩衝されず顎骨に伝わる。その結果、歯槽骨に過大な応力が発生して骨吸収が起こり、ゆるみが生じる危険性が高い。そこで、チタン製人工歯根をポリマーで被覆し、表面処理により細胞接着性タンパク質であるコラーゲンを固定化し、さらにその上に歯根膜細胞を培養し、歯根膜の再生を図っている。

#### 3. 骨格筋収縮エネルギーを利用した人工心臓駆動システム (筋肉の力学モデルの構築)

患者自身の筋肉を駆動力に用いる「骨格筋ポンプ」と呼ばれる新しいデバイスの開発を目的としている。広背筋と胸膜の間にバルーンを挟み込み、広背筋に電気刺激を与えて収縮させ、その収縮力を人工心臓の駆動力として有効に利用する。

(医学研究科心臓血管外科学講座との共同研究)

#### 4. 生体形態計測システムと手術シミュレーション (顎変形症治療計画支援システム)

顎変形症手術に際しては、患者と術者とが術式の定量的検討と術後の咬合機能と顔貌の改善予測情報を確認して(informed consent)、望むことが極めて重要である。3次元画像を多用した、治療計画支援のためのシステムを開発している。

(医学研究科口腔外科学講座との共同研究)

#### 5. 人工関節軟骨・人工椎間板などの医療用ハイドロゲル

関節軟骨が持つ優れた力学的特性を具備した人工関節軟骨材を開発することにより、関節の病変部のみを置換し健全な軟骨下骨梁を残す新しい人工関節軟骨の開発を目指している。当研究室にて新しく開発した高強度・高弾性率ポリビニルアルコールハイドロゲルは人工関節軟骨・椎間板材料として有望である。

## 6. 耐摩擦・摩耗特性に優れた人工関節用ポリエチレン

人工関節の摺動部に使用される超高分子量ポリエチレンの摩耗粉により発生する不良肉芽組織が骨吸収を惹起する異物反応が問題となっている。そこで、物理的な改良法により最終成形物に分子配向と結晶面配向を導入することにより、耐摩耗性の改良を試み、良好な結果が得られている。

## 7. MR Elastography (MRE) による in vivo 弾性率データの計測、解析および検証

磁気共鳴弾性率計測法(MRE)は、MRIをベースとする新たな測定技術であり、これによる体内組織・器官の非侵襲性弾性率計測の手法を確立し、医療研究支援用の生体組織データベースを構築する。また触感デバイスを用いた人工現実感(VR)によるVRモデルシステムを開発している。

(科学技術庁Sensible Human Project : 医学研究科医療情報部との共同研究)

## 8. 生体組織と材料の衝撃吸収特性など力学的物性の測定ならびに解析

衝撃解析シミュレーションや生体を模し頸部モデルによる追突実験から、鞭打ち損傷の発生メカニズムを解明し、安全な自動車シートの開発を試みている。 (運輸省Advanced Safety Vehicle Project)

In order to support diagnoses and treatments for recovery of the biofunction by means of development of biomaterials and artificial organs which harmonize with the living tissues in their mechanical behaviors, the following fundamental and applied research activities are carried out using the technique of computer and materials sciences in this department.

### 1. *Simulation of Biomechanical Adaptation Process of the Living Tissues.*

Numerical simulations are carried out especially on the modeling and remodeling phenomena of the bones as the biomechanical adaptation. With constraint functions such as stress distribution or strain energy density distribution, it is indicated that the form of the bone has been modeled, and the design of artificial dental roots which dynamically harmonizes with the living tissue under this constraint has been tried. (Joint research with the National Industrial Research Institute of Nagoya)

### 2. *Regeneration of the periodontal Membrane around Dental Implant Roots.*

The present artificial dental root is fixed directly in the alveolar bone without having periodontal ligament like natural tooth root, the stresses are directly transmitted without any damping effect. The excessive stresses in the alveolar bone may arise and cause the bone resorption by which the loosening of the implants occurs. Therefore, we have been attempting that the dental implant made of titanium is covered with a polymer, and the collagen which is the cell adhesive protein is fixed by some surface treatments, and in addition, the periodontal ligament cell is cultivated on the surface for regeneration of the periodontal membrane.

### 3. *Mechanical Analysis of the isometric Contraction of the Skeletal Muscles for an Artificial Heart Support. (Construction of Dynamic Model of the Muscle)*

Our development of a new device called "skeletal muscle pump" which uses the Latissimus Dorsi muscle for artificial heart drive system using the skeletal muscle contraction has been investigated. A balloon is inserted between the muscle and pleura, and an electric stimulation is given in the muscle to contract, and the shrinkage force is effectively utilized as driving force of the artificial heart. (Joint Research with Department of Cardiovascular Surgery, Kyoto University)

### 4. *Morphometry System and Operation Simulation (Therapeutic Planning Support System for Jaw*

*Deformities)*

In the jaw deformation disease operation, patients and surgeons would like to confirm quantitative evaluation of operative method and improvement of postoperative occlusal function and feature (informed consent). The system for the therapeutic planning support which uses the three-dimensional images abundantly has been developed. (Joint Research with Department of the Oral Surgery, Kyoto Univ.)

5. *New Artificial Articular Cartilage and Intervertebral Disk.*

Development of the artificial cartilage and intervertebral disk is necessary in order to recover support and mobility simultaneously in joints and spine which received the damage. We examined the possibility of the application of polyvinyl alcohol hydrogel which can control the mechanical strength by the change of water content and is excellent in the biocompatibility. It replaces only lesion part and leaves the sound subchondral bone. The high strength and high elastic modulus of the polyvinyl alcohol hydrogel newly developed in this department is promising as artificial articular cartilage and intervertebral disk material.

6. *Polyethylene for Artificial Joints with High Wear Resistance.*

The wear particles of polyethylene are produced by the friction between the metal and UHMWPE when artificial joint used for the long term. It is known that the osteolysis occurs by foreign body granulation tissue which the wear particle induces. The development of new UHMWPE for artificial joint which controlled super structure by the crystallization under molecular orientation is being tried in order to improve abrasion resistance of UHMWPE.

7. *MR Elastography Measurement, Analysis and Verification.*

Magnetic resonance elastic modulus measurement method (MRE) of the elastic modulus is a new measuring technique based on the MRI, and it establishes the technique of the noninvasive elastic modulus measurement of the living tissue and organ in vivo. Database construction for the medical research support, and virtual reality (VR) system using the haptic device are investigated. (Sensible Human Project sponsored by the Science and Technology Agency: Joint Research with Medical Information Division, Kyoto University)

8. *Measurement and Analysis of Impact Energy Absorption of the Living Tissues and Biomaterials.*

By computer simulations and experiments with anatomical cervical model in rear-end collision, the generation mechanism of the whiplash injuries is clarified, and the development of the safe automobile seat is being tried. (Advanced Safety Vehicle Project sponsored by the Ministry of Transportation)

## 【業績目録】

### ◎ 誌上発表 ◎

#### 1) 原著論文

Morphologic Changes in the Perioral Soft Tissues in Patients with Mandibular Hyperplasia using a Laser System for Three-Dimensional Surface Measurement. N. Motegi, S. Tsutsumi, H. Okumura, Y. Yokoe, T. Iizuka. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 28: 15-20, 1999.

CAD/CAM Fabrication of Occlusal Splints for Orthognathic Surgery. H. Okumura, L. H. Chen, Y. Yokoe, S.



- Tsutsumi, M. Oka. Journal of Clinical Orthodontics, 33(4): 231-235, 1999.
- Wear Resistance of Lightly Cross-Linked Ultrahigh-Molecular-Weight Polyethylene Crystallized from the Melt under Uniaxial Compression. M. Ohta, S. H. Hyon, M. Oka, S. Tsutsumi. Wear, 225-229: 312-318, 1999.
- Study of Diopside Ceramics for Biomaterials. T. Nonami, S. Tsutsumi. Journal of Materials Science, Materials in Medicine, 10: 475-479, 1999.
- Press-Formable CaO-MgO-SiO<sub>2</sub>-TiO<sub>2</sub>-Ag<sub>2</sub>O Glass for Biomaterial. T. Nonami, S. Tsutsumi. Journal of Biomaterials Science, 1999 (in press).
- 3D Virtual Imaging of Facial Skeleton and Dental Morphology for Treatment Planning in Orthognathic Surgery. H. Okumura, S. Tsutsumi. American Journal of Orthodontics, 1999 (in press).
- Surface Modification of Poly(ethylene-vinyl alcohol) (EVA). Part 1. Introduction of Carboxyl Groups and Immobilization of Collagen. K. Matsumura, S.-H.Hyon, N. Nakajima, and S. Tsutsumi. J. Biomed. Mater. Res., 1999 (in press).
- Dynamic Modulus Measurements of a Slightly Cross-linked Ultra-high Molecular Weight Polyethylene Crystallized under Uniaxial Compression. M. Ohta, S.-H.Hyon, Y.-B. Kang, S. Tsutsumi, M. Oka, S. Murakami, S. Kohjiya. Russian J. Biomechanics, 3 : 34-48 (1999)
- Evaluation of threshold stress for bone resorption around screws based on in vivo strain measurement of miniplate. T. Sugiura, K. Horiuchi, M. Sugimura, S. Tsutsumi. Musculo Skeletal Interactions, 3: 1999 (in press).
- IL-2, sIL-2R and TNF- $\alpha$  Serum Concentration in Recurrent Aphthous Ulceration. C. Peng, S. Tsutsumi, H.M. Al-Tahawi. The Saudi Dental Journal, 11(4), 1999 (in press).
- 配向結晶化UHMWPEの力学特性 玄 丞然, 太田 信, 堤 定美, 岡 正典 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 293-296, 1999.
- 生体関節と人工関節の摩擦特性について 林 力一, 坂口一彦, 岡 正典, 池内 健, 速水 尚, 由良茂人, 玄 丞然, 中村孝志, 牛尾一康 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 315-318, 1999.
- PVA-Hの生体内安定性評価 牛尾一康, 中村孝志, 岡 正典, 玄 丞然, 速水 尚, 由良茂人, 森川将名 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 315-318, 1999.
- 着地時衝撃吸収に関する力学解析 岡 千晶, 堤 定美 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 363-366, 1999.
- 膝関節の衝撃伝達機構に関する力学的研究 一下肢アライメントの変化について一 福田幸久, 高井信朗, 平澤泰介, 吉野信之, 池内 健, 森 拓二, 堤 定美, 村瀬晃平 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 417-421, 1999.
- 人工肘関節上腕骨コンポーネント周囲の応力解析 真多俊博, 中村孝志, 箕浦哲嗣, 吉田宏昭, 堤 定美 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 497-500, 1999.
- 人工椎間板の開発 岡 正典, 由良茂人, 玄 丞然, 中村孝志 脊椎背髄, 12 : 429-434, 1999.
- 人工股関節用UHMWPEカップの新しい成型法 玄 丞然, 太田 信, 姜 有峯, 堤 定美, 岡 正典 日本人工関節学会誌, 271-272, 1999
- Methods to reduce the wear of UHMWPE, M. Oka, S.-H.Hyon, M. Ohta, T. Nakamura, Y. Ushio, and J. Toguchida. Joint Arthroplasty, Ed. By S. Imura, Springer, Tokyo, p.109-118, 1999.

Biodegradable Scleral Implant for Controlled Intraocular Delivery of Betamethasone Phosphate. N. Kunou, Y. Ogura, Y. Honda and S.-H. Hyon. J. Control Release (1999) (in press)

## 2) 著書

仮骨延長のバイオメカニクス, 顎骨延長術の臨床応用 住吉周平, 堤 定美, 下田恒久, 本田武司, 伊藤学而, 上田 実, 高戸 毅 (編), クインテッセンス出版 (東京): p.51-54, 1999.

Methods to reduce the wear of UHMWPE, Joint Arthroplasty. M. Oka, S.-H. Hyon, M. Ohta, T. Nakamura, Y. Ushio, and J. Toguchida. Ed. By S. Imura, Springer, Tokyo, p.109-118, 1999.

インプラントの生体力学, 先端医療シリーズ: 歯科医学1. 歯科インプラントの最先端 堤 定美 末次恒夫, 松本直之 (監修), 先端医療技術研究所 (東京): p.95-113, 1999 (印刷中).

## 3) 総説

インプラントの材料の特性 一生体力学的適合性— 堤 定美 日本歯科医学会雑誌, 17: 106-109, 1998.

歯科用セラミックスの理工学的性質 堤 定美, 関野雅人 日本補綴歯科学会雑誌, 43(2): 194-202, 1999.

臨床理工学的見地からの歯冠修復用セラミックス 堤 定美 日本歯科医師会雑誌, 52(2): 119-128, 1999.

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

人工股関節用UHMWPEカップの新しい成型法 玄 丞然, 太田 信, 姜 有峯, 堤 定美, 岡 正典 第29回日本人工関節学会 1999.1.28-30. 岡山

77th General Session of International Association for Dental Research. Y. Yonehata, Y. Maeda, S. Tsutsumi. 1999.3.11. Bancouver, Canada.

PHYSICOCHEMICAL STUDIES ON POLY (VINYLALCOHOL) HYDROGELS. S. H. Hyon. 1999 Spring Conference of the Korean Fiber Society. 1999.4.10. Korea (招待講演)

Wear Resistance of Lightly Cross-linked UHMWPE Crystallized from the Melt under Uniaxial Compression. M. Ohta, S.H. Hyon, M. Oka, S. Tsutsumi. 1999.4.26. USA

ポリ乳酸 (PLLA)の一軸延伸 玄 丞然ほか 繊維学会予稿集 1999.5.10-12 千葉

PVA濃厚溶融液からのゲル化 玄 丞然, 松村和明, 車 源日, 堤 定美, 岡 正典 高分子学会予稿集 1999.5.27-29. 京都

エチレンービニルアルコール共重合体の表面処理とコラーゲンの固定化 松村和明, 中島直喜, 彭 春岩, 堤 定美, 玄 丞然 高分子学会予稿集 1999.5.27-29. 京都

L-ラクチド/トリメチレンカーボネート共重の合成とその物性 水野慎一, 中島直喜, 堤 定美, 玄 丞然 高分子学会予稿集 1999.5.27-29. 京都

配向結晶化人工関節カップの高次構造 太田 信, 玄 丞然, 姜 有峯, 村上昌三, こうじ谷信三, 堤 定美 高分子学会予稿集 1999.5.27-29. 京都

エチレンービニルアルコール共重合体の表面処理とコラーゲンの固定化 松村和明, 中島直喜, 彭 春岩, 堤 定美, 玄 丞然 第2回日本組織工学会 1999.6.25-26. 東京

- 耐摩耗性に優れた人工関節摺動部材の開発 玄 丞然, 太田 信, 姜 有峯, 堤 定美, 岡 正典 第28回医用高分子シンポジウム 1999.7.29-30. 東京
- NOVEL MOULDING METHOD FOR AN ARTIFICIAL ACETABULAR CUP. S.H. Hyon, M. Ohta, Y.B. Kang, S. Tsutsumi, M. Oka. The 4th Asia-Pacific Conference on Medical & Biological Engineering 1999.9.12-15. Korea
- エチレンービニルアルコール共重合体の表面処理および細胞親和性の付与 松村和明, 中島直喜, 彭 春岩, 玄 丞然, 堤 定美 第48回高分子討論会 1999.10. 6-8. 新潟
- 人工関節用超高分子量ポリエチレンの成形加工 太田 信, 姜 有峯, 玄 丞然, 堤 定美, 村上昌三, こうじ谷 信三 第48回高分子討論会 1999.10.6-8. 新潟
- 歯根膜を有する人工歯根の開発研究 [I]チタンインプラントへの高分子膜の接着と表面処理 玄 丞然, 松村和明, 中島直喜, 彭 春岩, 堤 定美 第34回日本歯科理工学会学術講演会講演集 1999.10.9-10. 北海道
- 歯根膜を有する人工歯根の開発研究 [II]コラーゲン固定化EVA上でのヒト歯根膜細胞培養 彭 春岩, 松村和明, 中島直喜, 玄 丞然, 堤 定美 第34回日本歯科理工学会学術大会 1999.10.9-10. 札幌.
- 生体材料と国際規格 堤 定美 第11回有床義歯技工技術研究会 1999.10.2. 大阪
- FUKUOKA TMJ TOTAL PROsthESIS の開発 第二報 生体力学的解析について 下田恒久, 高山義之, 鴛海 美帆, 住吉周平, 本田武司, 堤 定美 第44回日本口腔外科学会総会 1999.10.7-8, 東京.
- かみしめ時に顎関節部に生じる応力の三次元有限要素法による解析 久津木 学, 山口芳功, 秦 光明, 西川正典, 西村一行, 吉武一貞, 堤 定美 第44回日本口腔外科学会総会 1999.10.7-8, 東京.
- 形態異常の見られないヒト顎関節のpQCT所見と生体力学的解析 大塚さかゆ, 下田恒久, 高山義之, 住吉周平, 本田武司, 堤 定美 第44回日本口腔外科学会総会 1999.10.7-8, 東京.
- 圧縮配向結晶化による超高分子量ポリエチレン結晶の残留応力測定 太田 信, 姜 有峯, 玄 丞然, 堤 定美, 田邊裕貴, 三好良夫 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都
- 人工肘関節コンポーネント周囲の応力解析 真多俊博, 赤木将男, 中村孝志, 堤 定美 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都
- 有限要素法を用いたベルテス病骨頭変形の解析 細川元男, 金 郁吉, 福田幸久, 高井信朗, 平澤泰介, 吉野信之, 堤 定美 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都
- 多方向断面積層による三次元FEMモデル構築 村瀬晃平, 堤 定美 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都
- Laser Doppler計測法による生体軟組織弾性情報収集システム 箕浦哲嗣, 堤 定美, 坂井信幸, 永田 泉 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都
- MRIによる咬合運動解析 東 高志, 土肥健二, 堤 定美, 井上博志, 林 浩二, 伊藤 仁 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都
- 膝関節の衝撃伝達機構に関する力学的研究 一二次元非線形有限要素解析を用いて一 福田幸久, 高井信朗, 平澤 泰介, 吉野信之, 村瀬晃平, 堤 定美, 吉田宏昭, 池内 健 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都
- 犬大腿骨頭部分的表面置換術に於けるStress Shielding 牛尾一康, 中村孝志, 岡 正典, 玄 丞然, 由良茂人, 速水 尚, 浦川隆史 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都
- PVA-Hの力学的特性に関する研究 森川将名, 坂口一彦, 岡 正典, 玄 丞然, 速水 尚, 牛尾一康, 中村孝志

第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都

犬用人工椎間板の力学的特性評価(第2報) 孕石佳久, 坂口一彦, 岡 正典, 由良茂人, 玄 丞然, 速水 尚, 中村孝志 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都

人工椎間板の疲労強度特性 久田祥博, 速水 尚, 児島忠倫, 岡 正典, 由良茂人, 玄 丞然, 中村孝志 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 1999.11.6-7. 京都

Long-term preservation of the mammalian cells at the living body temperature. S.H. Hyon, O.J. Kim. Proceedings of the 4th International Conference on Cellular Engineering. 1999.11.30-12.3. 奈良

RAT PANCREATIC ISLETS HIBERNATE UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS. S.H. Hyon, O.J. Kim. 第11回日本MRS学術シンポジウム 1999.12.16-17 神奈川

## 2) 講演

Improvement of Wear Resistance of UHMWPE by Slightly Cross-linked Crystallization and 3-D orientatation. S. Tsutsumi. Smith & Nephew Seminar, 1999.3.8, Memphis, USA. (Invited Lecture)

Risk Management 堤 定美 第10回有床義歯技工技術研究会 1999.4.18. 仙台(特別講演)

Biomechanical Criteria for Bone Remodeling in Computer Simulation. S. Tsutsumi, T. Sugiura. 1st Workshop on Musculo Skeletal Interactions, 1999.5.25. Santorini, Greece. (Invited Lecture)

顎機能と顔面形態の評価 堤 定美 平成11年度日本学術会議口腔機能学研究連絡委員会シンポジウム 1999.5.30. 東京(招待講演)

インプラントの生体力学 堤 定美 日本臨床インプラント研究会1999年度研修会 1999.7.24. 東京(特別講演)

シミュレーション歯科医工学を目指して 堤 定美 平成11年度歯科理工学会近畿中四国支部会 1999.8.28. 徳島.(特別講演)

Mechanical Properties of Polyurethane Tube for Artificial Esophagus. S. Tsutsumi, R. Nakai, Y. Kang. Bio-medical Engineering Seminar at Yonsei University, 1999.9.15. Seoul, Korea. (招待講演)

咬合とシミュレーション医工学 堤 定美 第6回BBO研究会 1999.11.20, 東京.(特別講演)

歯科医療とシミュレーション医工学 堤 定美 第17回日本歯周外科研究会 1999.11.23, 名古屋.(特別講演)

## 生体組織工学研究部門

### 生体分子設計学分野

### Department of Molecular Interaction and Tissue Engineering

#### 【研究概要】

本研究分野では、硬組織の形成と再生修復、組織血管化の分子機構の解明を主たるテーマとして、細胞レベルや分子レベルでの解析を行っている。現在の研究テーマは、以下の通りである。

- **軟骨分化制御の分子機構に関する研究**：マウス EC 由来 ATDC5 細胞が軟骨幹細胞株の性格をよく保持していることを明らかにし、軟骨多段階分化モデルを構築することに成功した。その解析から 1) 幹細胞の高い自己複製能が FGF シグナルに支配されていること、2) 前駆軟骨細胞の分化進展が BMP-2/4 と PTH/PTHrP シグナルによる正負の制御をうけていることを明らかにした。現在、ATDC5 は軟骨分化を解析するスタンダードな系として国際的に用いられている。
- **関節軟骨再生の分子制御機構**：上記の成果を *in vivo* における関節軟骨全層欠損の再生修復誘導に応用した。その結果、欠損部内への FGF シグナルが骨髄由来の軟骨幹細胞の選択的遊走と自己複製に働いて、軟骨再生を誘導することを明らかにした。さらに、PTH シグナルは前駆軟骨細胞の分化を *in vivo* で阻害した。PTH 応答性の解析から前駆軟骨細胞に発現する機能性マーカーの同定を試みている。
- **内軟骨性骨形成（血管侵入による軟骨から骨への置換機構）に関する研究**：軟骨は間葉系組織のうちでは例外的に無血管な組織で、周囲からの血管侵入に強い抵抗性を示す。この点に着目して、ウシ胎仔軟骨から血管新生阻害因子を分離精製し、Chondromodulin-I (ChM-I) と命名した。一方、胎生期には軟骨は骨原基として機能している。ChM-I 遺伝子は骨原基の無血管ゾーン特異的に発現し、その発現消失に伴って血管が侵入し、骨に置換されることを明らかにした。また、トリ肢芽では軟骨形成に先立つ血管網の縮退にも関与していることを示した。
- **軟骨由来抗血管新生因子による血管新生制御に関する研究**：ヒト ChM-I cDNA のクローニングとその機能的発現に成功した。軟骨肉腫では ChM-I の発現が特異的に消失していることを突き止めた。ヒト軟骨肉腫株 OUMS-27 xenograft モデルを用いてリコンビナントヒト ChM-I が腫瘍血管新生を阻害し、腫瘍造成を強く抑制することを示した。腫瘍血管新生のみならず種々の血管新生病への応用をめざしている。

(文責 宿南)

The proper growth and differentiation signalings from the surrounding extracellular environments regulate tissue formation and its functions. We are aiming at the elucidation of molecular interactions and signaling networks underlying bone and cartilage formation and vascularization.

#### 1. Regulatory Mechanism of Chondrogenic Differentiation

We previously established the *in vitro* model of multistep chondrogenic differentiation using mouse EC cell line, ATDC5, which is currently used as one of the standard cell lines. Based on the analysis of this model, we proposed that the following signals are critical for chondrogenesis: 1) FGF signal for the rapid self-renewal of progenitors; 2) the balance of BMP-2/4 and PTH/PTHrP signalings for the progressive differentiation.



## 2. Regulation of Regeneration of Full-Thickness Defects of Articular Cartilage

We applied the above model for the regulation of reparative responses in full-thickness defects of articular cartilage, and demonstrated that the supply of FGF signal determined the capacity of self-renewal of chondroprogenitors. Supplementation of FGF induced cartilage repair in the defect cavities. In contrast, PTH signal inhibited differentiation of progenitors without any effect on their proliferation.

## 3. Regulation of Vascular Invasion during Endochondral Bone Formation

Cartilage is exceptionally avascular and anti-angiogenic among tissues of mesenchymal origin. We identified an angiogenic inhibitor in cartilage, and named it chondromodulin-I (ChM-I). During bone formation, cartilage switches its phenotype from anti-angiogenic to angiogenic prior to vascular invasion into cartilaginous bone precursors. We demonstrated that ChM-I participated in phenotypic switching of cartilage.

## 4. Cartilage-derived Angiogenesis Inhibitor and Its Application to Angiogenic Diseases

We succeeded in the molecular cloning and functional expression of human ChM-I. Recently, we found that chondrosarcomas from clinical samples specifically lost the expression of ChM-I gene. Recombinant human ChM-I evidently inhibited tumor angiogenesis and growth of OUMS-27 human chondrosarcoma xenografts.

# 【業績目録】

## ● 誌上発表 ●

### 1) 原著論文

Spatiotemporal pattern of the mouse chondromodulin-I gene expression and its regulatory role in vascular invasion into cartilage during endochondral bone formation. C. Shukunami, K. Iyama, H. Inoue, and Y. Hiraki. *Int. J. Dev. Biol.*, 43: 39-49, 1999

Cloning of a novel gene specifically expressed in clonal mouse chondroprogenitor-like EC cells, ATDC5. H. Akiyama, Y. Hiraki, C. Shigeno, H. Ito, J. Kawai, J. Konishi, Y. Shimizu, and T. Nakamura. *Biochim. Biophys. Acta*, 1444: 291-294, 1999

Molecular cloning of human chondromodulin-I, a cartilage-derived growth modulating factor, and its expression in chinese hamster ovary cells. Y. Hiraki, K. Mitsui, N. Endo, K. Takahashi, T. Hayami, H. Inoue, K. Tokunaga, C. Shukunami, T. Kono, M. Yamada, H. Takahashi, and J. Kondo. *Eur. J. Biochem.*, 260: 869-878, 1999

Molecular cloning of mouse and bovine chondromodulin-II cDNAs and the growth-promoting actions of its recombinant protein. C. Shukunami, J. Kondo, H. Wakai, K. Takahashi, H. Inoue, A. Kamizono, and Y. Hiraki. *J. Biochem. (Tokyo)*, 125: 436-442, 1999

Indian hedgehog in the late-phase differentiation in mouse chondrogenic EC cells, ATDC5: upregulation of type X collagen and osteoprotegerin ligand mRNAs. H. Akiyama, C. Shigeno, K. Iyama, H. Ito, Y. Hiraki, J. Konishi, and T. Nakamura. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 257: 814-820, 1999

Generation of multiple transcripts from chicken chondromodulin-I gene and their expression during embryonic development. C. Shukunami, S. Yamamoto, T. Tanabe and Y. Hiraki. *FEBS Lett.*, 456: 165-170, 1999

Specific loss of chondromodulin-I gene expression in chondrosarcoma and the suppression of tumor angiogenesis and growth by its recombinant protein in vivo. T. Hayami, C. Shukunami, K. Mitsui, N. Endo, K. Tokunaga, J. Kondo, H.E. Takahashi and Y. Hiraki. FEBS Lett., 458: 436-440, 1999

Molecular cloning and biological activity of a novel H-Ras suppressor gene predominantly expressed in skeletal muscle, heart, brain and bone marrow by differential display using clonal mouse EC cells, ATDC5. H. Akiyama, Y. Hiraki, M. Noda, C. Shigeno, H. Ito, and T. Nakamura. J. Biol. Chem., 274: 32192-32197, 1999

## 2) 著書および総説

軟骨細胞分化の制御因子. 宿南知佐, 開 祐司 CLINICAL CALCIUM, 9: 452-457, 1999

コンドロモジュリンと軟骨再生. 開 祐司 再生医学—基礎と治療への応用— (Regeneration Medicine: Bridging between Basic and Clinical Sciences), pp. 92-98

軟骨幹細胞の増殖分化と関節軟骨の再生. 開 祐司, 宿南知佐, 水田博志 リウマチ科, 22: 10-17, 1999

軟骨再生の分子機構と治療への展開. 開 祐司 最新医学, 54: 2843-2849, 1999

オーバービュー: 再生医学ということを考える. 開 祐司 現代医療, 31: 2976-2983, 1999

軟骨細胞. 細胞外マトリックス研究法 [4] ~基礎知識からデータの解釈まで~ (コラーゲン技術研修会 刊), 編集: 畑隆一郎, 服部俊治, 新井克彦 第IV部. 機能解析法 上, 第1章f.(2), pp. 66-69

## ◎ 学会等の講演 ◎

### 1) 学会・研究会発表

Specific loss of chondromodulin-I (ChM-I), cartilage derived angiostatic factor, mRNA and the suppression of the growth by recombinant ChM-I in chondrosarcoma. T. Hayami, N. Endo, K. Tokunaga, H. Hatano, H. Yamagiwa, C. Shukunami, J. Kondo, K. Mitsui, H. E. Takahashi and Y. Hiraki. The 45th annual meeting of the orthopaedic research society; (1999.2.1. Anaheim, California, USA)

活性型Notchは軟骨細胞様細胞株ATDC5の結節形成と基質産生を抑制する. 渡辺尚子, 木村(飯島)直子, 開 祐司, 穂積信道, 手塚建一 第17回日本骨代謝学会 (1999.7.29. 大阪)

A novel in vitro culture system for the analysis of the functional role of Pi transport in endochondral ossification. J. Guicheux, G. Palmer, C. Shukunami, Y. Hiraki, J. P. Bonjour, J. Caverzasio. 21st Annual Meeting of the American Society for Bone Mineral Research (1999.9.30. St. Louis, Missouri, USA)

異所性骨転移モデルによる血管新生阻害剤chondromodulin-Iによる骨転移抑制効果. 若林弘樹, 飯田浩次, 瀬戸正史, 山崎 隆, 園田 潤, 光井かおり, 開 祐司, 内田淳正 第58回日本癌学会総会 (1999.9.29. 広島)

### 2) 講演・セミナーなど

1999. 2. 2. 開 祐司 (京都大学再生医科学研究所), 関節軟骨の再生誘導, 武田薬品工業開拓第1研究所セミナー

1999. 2. 2. 開 祐司 (京都大学再生医科学研究所), コンドロモジュリン-Iの腫瘍血管新生阻害作用, 平成10年度がん特定 公開・合同シンポジウム

1999. 2. 3. 開 祐司 (京都大学再生医科学研究所), 軟骨分化の制御シグナルネットワーク, 東京理科大学生命科学研究センター

1999. 2. 25. 開 祐司（京都大学再生医科学研究所），軟骨基質の硫酸化とFGFシグナリング，新潟大学歯学部大学院特別講義
1999. 3. 11. Y. Hiraki (Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University), Chondromodulin-I as a novel cartilage specific growth factor., Sixth Symposium on Growth and Development in Children with Chronic Renal Failure "The Molecular Basis of Skeletal Growth"
1999. 9. 21. C. Shukunami (Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University), Role of cartilage-derived anti-angiogenic factor, chondromodulin-I, during endochondral bone formation., Sulzer Surlej-Meeting on Cartilage Biology.
1999. 9. 21. Y. Hiraki (Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University), Differentiation of chondrogenic precursor cells during the regeneration of articular cartilage., Sulzer Surlej-Meeting on Cartilage Biology.
1999. 11. 19. 開 祐司（京都大学再生医科学研究所），宿南知佐（京都大学再生医科学研究所），水田博志（熊本大学医学部），組織幹細胞の増殖分化と関節軟骨組織の修復，第21回日本バイオマテリアル学会大会
1999. 12. 8. 開 祐司（京都大学再生医科学研究所），宿南知佐（京都大学再生医科学研究所），ChM-Iの抗腫瘍作用，第22回日本分子生物学会年会ワークショップ 血管新生の分子機構とがん治療の展開
1999. 12. 9. 手塚建一（東京理科大），渡辺尚子（東京理科大），守村直子（東京理科大），宮谷精二（東京理科大），開 祐司（京都大学再生医科学研究所），活性型Notchは骨芽細胞と軟骨細胞の分化を異なった方向に制御する，第22回日本分子生物学会年会ワークショップ 骨粗鬆症の分子生物学

## 組織修復材料学分野 Department of Reporative Materials

### 【研究概要】

本研究分野は、高分子材料の医療への応用を目指して研究を進めてきた旧生体医療工学研究センターの分野に由来している。従来は、抗血栓性材料、組織適合性材料や生体内吸収性材料の開発、さらに、それらを用いた医療用具、薬物のコントロールドリリースシステム、さらに人工臓器の開発を行ってきた。病気や事故で失われた組織や臓器の機能を人工物で代行する方法では、患者は質の高い生活を送ることが困難であることが多い。現在、本研究分野は、より質の高い生活を送れるよう組織や臓器の機能を再生させる研究へと発展させつつある。

岩田は、人工心臓、人工脾臓また人工肝臓の研究のたずさわってきた経緯もあり、臓器の再生を中心に研究を進めている。遠い未来はさておき、近未来の臓器再生治療の対象となりうる患者は、心筋梗塞や劇症肝炎など緊急で重症な患者であろう。このような状況では、細胞移植や液性因子の投与で臓器の再生を促進すると共に、その期間損傷された臓器の機能を人工臓器で代行し、さらに、臓器再生を阻害する要因、例えば臓器への負荷や再生を阻害する液性因子、の除去を行う必要がある。開発を進める人工臓器は、装着時の患者への侵襲が小さいこと、自己臓器への負荷を効率よく除去できること、さらに、臓器再生と共にくまなく人工臓器を除去できるなど、従来の完全置

換を目指して開発されてきた人工臓器とは異なる。現在、臓器再生を目的とした人工臓器の開発、細胞移植や液性因子の投与を行うための低侵襲経皮手術法の開発、さらに、それに必要な材料開発に関連する研究を大学内外のグループと共同で進めている。

近年、種々の組織の幹細胞が手に入るようになり、近い将来あらゆる組織と臓器が再生できると楽観的に考えられている。しかし、組織を再構築するためには、血管などの管腔系を形成させ、さらにこの管腔系の周囲へ機能性細胞を機能を発揮できる方向性を持った状態で配列する方法がないのが現状である。3次元組織の構築を人工的に行う方法の研究を探索的に進めている。

田畑は、欠損あるいは損傷した組織を細胞を利用することによって再生、修復させるために必要な生体材料の研究を行っている。生体組織の再生には、細胞の増殖、分化のための足場となる細胞外マトリックス(ECM)が必要であり、これまでコラーゲンをベースとした異なる生体吸収性をもつスポンジ状の人工ECMを作製している。2番目に必要な材料は、細胞の増殖、分化を誘導するための細胞増殖因子の徐放キャリアである。増殖因子は生体内で不安定であるため、生物活性の発現にはその徐放化は不可欠である。生物活性をもつbFGF、TGF- $\beta$ 1、VEGF、HGFなどの細胞増殖因子を生体吸収性のコラーゲンあるいはゼラチンハイドロゲルキャリアから徐放する技術をすでに確立した。また、この徐放化技術を用いることによってウサギ、サルなどの頭蓋骨欠損部の骨組織再生に成功している。今後は、これらの材料を利用し、皮膚、脂肪、骨、軟骨、神経、歯周組織、毛髪、心筋、腎臓、網膜などの組織、臓器の再生について、医学部との共同研究を通して、具体的な臨床応用を目指した研究を展開して行きたいと考えている。

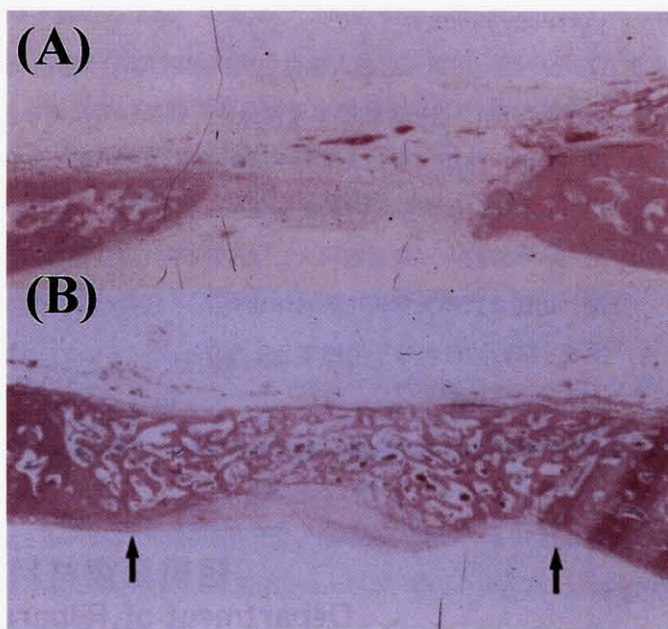


図1 カニクイザルの頭蓋骨欠損部(6mm)における骨組織の再生  
(A)未処置、(B)bFGF(100  $\mu$ g)含有ゼラチンハイドロゲルの埋入21週後

#### Department of Reporative Materials

This department is originated from the divisions of Molecular Design and Biomaterials of the former Research Center for Medical Engineering, which focused on how to apply polymeric materials for medical uses. Former research subjects can be grouped into two areas. One is the synthesis of blood and tissue compatible and bioabsorbable materials, and the others are the development of artificial organs and drug-controlled-release systems using those materials. However, we recognized that the patients faced difficulties to spend their life in a high quality when a part of their tissue or organ is replaced with artificial parts. Since the reorganization of the research center, we are expanding our researches to regeneration of tissues and organs with the assistance of polymeric material.

With his 20-year research experiences with projects on the developments of artificial organs, such as heart, pancreas, and liver, Dr. Iwata concentrates his efforts mainly on regeneration or reconstruction of internal organs. Medical cares with the method of organ regeneration are applied to the patients who suffer

from severe acute diseases such as cardiac infarction and fulminant hepatitis. Our goal is to develop methods for organ regeneration and novel artificial organs. Novel artificial organs, especially, can not only replace the functions of an organ to maintain a patient during organ regeneration but also can remove loads and humoral factors that exert deteriorating effects on organ regeneration.

In recent years, several groups reported that stem cells for various tissues could be isolated and maintained in vitro. They also claimed that various tissues could be regenerated from those stem cells. However, there is no concrete method that is applicable for the development of tissues with complicate structures and internal organs. We started feasibility studies to prepare tissue mass with a 3-dimensional blood capillary network and with parenchymal cells in vitro.

Dr. Tabata's objective is to create biomedical materials for regeneration of lost or damaged tissues or organs using cells. Tissue regeneration needs extracellular matrix (ECM) as scaffolds for the proliferation and differentiation of cells. We have explored collagen-based sponges with different biodegradabilities for artificial ECMs. In addition, growth factors are required to promote tissue regeneration. However, one cannot always expect biological effects of growth factor because of its poor in vivo stability unless its drug delivery is modified. We have prepared biodegradable collagen or gelatin hydrogels, succeeding in sustained release of biologically active growth factors (bFGF, TGF- $\beta$ 1, VEGF, and HGF). Bone regeneration at the skull defect of rabbits or monkeys could be induced through this release system. Aiming at concrete clinical applications with collaboration from the medical department, we are planning to apply our research results to the regeneration of tissues or organs such as skin, fat, bone, cartilage, nerve, hair, periodontium, myocardium, kidney, and retina.

## 【業績目録】

### ◎ 誌上発表 ◎

#### 1) 原著論文

- Characterization of ultrahigh molecular weight polyethylene irradiated with  $\gamma$ -rays and electron beams to high factor. Y. Ikada, K. Nakamura, S. Ogata, K. Makino, K. Tajima, N. Endoh, T. Hayashi, S. Fujita, A. Fujisawa, S. Matsuda, and H. Oonishi. J. Polym. Sci. A: Polym. Chem., 37, 159-168, 1999.
- Neovascularization through of biodegradable gelatin microspheres incorporating basic fibroblast growth factor. Y. Tabata, S. Hijikata, Md. Muniruzzaman, and Y. Ikada. J. Biomater. Sci. Polymer Edn., 10 (1), 79-94, 1999.
- Preparation of DNA-immobilized immunoadsorbent for treatment of systemic lupus erthematosus. B. Zhu, H. Iwata, D. Kang, Y. Yu, K. Kato, and Y. Ikada. J. Biomater. Sci. Polymer Edn., 10 (3), 341-350, 1999.
- Marrow cell culture on poly-L-lactic acid fabrics. Y. Hasegawa, H. Ohgushi, M. Ishimura, T. Habata, S. Tamai, N. Tomita, and Y. Ikada. Clinical Orthopaedics and Related Research, No.358, 235-243, 1999.
- Bioadhesion of gelatin filmas crosslinked withg glutaraldehyde. S. Matsuda, H. Iwata, N. Se, and Y. Ikada. J. Biomed. Mater. Res., 45, 20-27, 1999.



- Simple mixing of IFN with a polysaccharide having high liver affinity enables IFN to target to the liver. Y. Tabata, Y. Matsui, K. Uno, Y. Sokawa, and Y. Ikada. *J. Interferon and Cytokine Research*, 19, 287-292, 1999.
- Sealing effect of rapidly curable gelatin-poly(L-glutamic acid) hydrogel glue on air leak. Y. Otani, Y. Tabata, and Y. Ikada. *Ann. Thorac. Surg.*, 67, 922-926, 1999.
- Targeting of tumor necrosis factor to tumor by use of dextran and metal coordination. Y. Tabata, Y. Noda, Y. Matsui, and Y. Ikada. *J. Controlled Release*, 59, 187-196, 1999.
- Biodegradation of hydrogel carrier incorporating fibroblast growth factor. Y. Tabata, A. Nagano, and Y. Ikada. *Tissue Engineering*, 5 (2), 127-138, 1999.
- Control of complement activities for immunoisolation. H. Iwata, Y. Murakami, and Y. Ikada. *Bioartificial Organs II*, 875, 7-23, 1999.
- In vitro and in vivo comparison of bulk and surface hydrolysis in absorbable polymer scaffolds for tissue engineering. K.P. Andriano, Y. Tabata, Y. Ikada, J. Heller. *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)* 48, 602 - 612, 1999
- Bioabsorbable microspheres for local drug release in the articular. D.V. Ramesh, Y. Tabata and Y. Ikada. *J. Bioact. Compat. Polym.*, 14, 137 - 149, 1999.
- Fabrication of porous gelatin scaffolds for tissue engineering. H.-W. Kang, Y. Tabata, Y. Ikada. *Biomaterials*, 20, 1339 - 1344, 1999.
- Chemical conjugation of interferon with pullulan and its antiviral activity. Y. Tabata, K. Xi, K. Uno and Y. Ikada. *S.T. P. Pharma Sciences*, 9(1), 17 - 21, 1999.
- Surface studies of ultra-high molecular weight polyethylene irradiated with high-energy pulsed electron beams in air. O.N. Tretinnikov, S. Fujita S. Ogata, Y. Ikada. *J. Polym. Sci. B.: Polym. Phys.*, 37, 1503 - 1512, 1999.
- In vitro evaluation of metabolic functions of a bioartificial liver. H. Iwata, T. Sajiki, H. Maeda, Y.-G. Park, B. Zhu, S. Satoh, T. Uesugi, I. Ikai, Y. Yamaoka, and Y. Ikada. *ASAIO J.*, 45, 299-306, 1999.
- Vascularization effect of basic fibroblast growth factor released from gelatin hydrogels with different biodegradabilities. Y. Tabata, Y. Ikada. *Biomaterials*, 20, 2169-2175, 1999.
- Skull bone regeneration in primates in response to basic fibroblast growth factor. Y. Tabata, K. Yamada, L. Hong, S. Miyamoto, N. Hashimoto, and Y. Ikada. *J. Neurosurg.* 91, 851-856, 1999.
- Vascularization into a porous sponge by sustained release of basic fibroblast growth factor. Y. Tabata, M. Miyao, M. Yamamoto, and Y. Ikada. *J. Biomater. Sci. Polymer edn.*, 10(9), 957-968, 1999.
- Growth factor release from gelatin hydrogel for tissue engineering. M. Yamamoto, Y. Tabata and Y. Ikada. *J. Bioact. Compt. Polym.*, 14(6), 474-489, 1999.
- 人工真皮（ペルナック）に対するbasic fibroblast growth factorの添加効果. 河合勝也, 鈴木茂彦, 田畑泰彦, 筏 義人, 西村善彦. *日本熱傷学会誌*, 25(2), 54-62, 1999.
- 配位結合を利用した高分子へのタンパク質薬物の結合. 田畑泰彦, 筏 義人. *Drug Delivery System*, 14(3), 171-178, 1999.
- TGF- $\beta$ 1 含有吸収性ゼラチンハイドロゲルの頭蓋骨再生能. 洪 流, 田畑泰彦, 山本雅哉, 宮本 享, 橋本信夫,

- 筏 義人. Drug Delivery System, 14(1), 43-50, 1999.
- Effect of Focal X-ray Irradiation on Experimental Choroidal Neovascularization. H. Miyamoto, H. Kimura, T. Yasukawa, Y. Honda, Y. Tabata, Y. Ikada, K. Sasai, and Y. Ogura. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 40(7), 1496-1502, 1999.
- Surfactant-free preparation of biodegradable hydrogel microspheres for protein release. Y. Tabata, K. Morimoto, H. Katsumata, T. Yabuta, K. Iwanaga, M. Kakemi, and Y. Ikada. J. Bioactive Compatible Polymers, 14, 371-384, 1999.
- Targeted delivery of anti-angiogenic agent TNP-470 using waters-soluble polymer in the treatment of choroidal neovascularization. T. Yasukawa, H. Kimura, Y. Tabata, H. Miyamoto, Y. Hinda, Y. Ikada, and Y. Ogura. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 40(11), 2690-2696, 1999.
- Fate of biodegradable D,L-lactic acid oligomer microspheres in the articular. M. Nishide, Y. Tabata, S. Kamei, Y. Takakura, S. Tamai, and Y. Ikada. J. Bioactive Compatible Polymers, 14, 385-398, 1999.
- Nerve regeneration through biodegradable gelatin conduits in mice. N. Mligiliche, Y. Tabata, and C. Ide. East African Medical Journal, 76, 400-406, 1999.
- ポリイオンコンプレックスを利用したヒドロゲルからの種々の細胞増殖因子の徐放化. 山本雅哉, 田畑泰彦, 筏 義人. Drug Delivery System, 14(6), 101-105, 1999.
- Vascularization into a porous sponge by sustained release of basic fibroblast growth factor. Y. Tabata, M. Miyao, M. Yamamoto, and Y. Ikada. J. Biomater. Sci., Polym. Ed., 10(9), 957-968, 1999.
- Suppression of experimental corneal angiogenesis by focal x-ray irradiation. H. Miyamoto, H. Kimura, T. Yasukawa, C-F. Yang, Y. Honda, Y. Tabata, Y. Ikada, K. Sasai, and Y. Ogura. Current Eye Research, 19(1), 53-58, 1999.
- Crosslinking of amniotic membranes. T. Fujisato, Y. Tabata, K. Tomihata, Y. Iwamoto, K. Burczak, and Y. Ikada. J. Biomater. Sci. Polymer Edn, 10(11), 1171-1181, 1999.

## 2) 著書および総説

- 超音波利用で薬物作用増強 -超音波を利用して薬物の作用を増強する試み-. 田畑泰彦, 筏 義人. 超音波TEC HNO, 3, 37-40, 1999.
- 環境問題と21世紀の展望. 筏 義人. 新医療, 1月号, 37-39, 1999.
- Polymeric biomaterials research. Y. Ikada. Advanced Engineering Materials, 1(1), 67-68, 1999.
- Agarose. H. Iwata and Y. Ikada. Cell Encapsulation Technology and Therapeutics, W.M. K\_\_treiber, R.P. Lanza, and W. L. Chick, eds., Birkhaser, 97-107, 1999.
- 組織工学 -この一年の進歩-. 田畑泰彦. 人工臓器 27(5), 814-816 (1999)
- 組織工学へのDDS技術の応用. 田畑泰彦. 「組織工学入門」上田実編, 名古屋大学出版会, 52 - 67 (1999).

## ◎ 学会等の講演 ◎

### 1) 学会・研究会発表

- ポリ(2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸)をグラフト化したポリスチレンビーズと補体系との相互作用

- 用. 村上能庸, 北野悦子, 北村 肇, 岩田博夫, 筏 義人. 第48回高分子学会年次大会 (1999.5.27-29 京都)
- 徐放性細胞増殖因子を組み込んだ組織再生のためのストラテジー. 田畑泰彦. 第11回再生医工学研究会 (1999. 6.14. 大阪)
- ポリ (2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸) をグラフト化したポリスチレンビーズの補体活性化抑制機構. 村上能庸, 北野悦子, 北村 肇, 岩田博夫, 筏 義人. 第36回補体シンポジウム (1999.6.21-23 東京)
- ゼラチンとのコンプレックスに伴う b F G F の細胞増殖活性の変化. 石井倫裕, 田畑泰彦, 平野義明, 筏 義人. 第45回高分子研究発表会 (1999.7.8. 神戸)
- セルロース中空糸の表面処理による細胞接着性の付与. 高 寅甲, 岩田博夫, 筏 義人. 第45回高分子研究発表会, (1999.7.8. 神戸)
- 血管内皮細胞増殖因子の徐放化とその血管新生作用. 宮尾 学, 田畑泰彦, 筏 義人. 第15回日本DDS学会 (1999.7.8-9. 香川)
- ゼラチンマイクロスフィアからのタンパク質医薬品の放出制御因子に関する研究. 藪田俊之, 森本一洋, 岩永一範, 掛見正郎, 田畑泰彦, 筏義人. 第15回日本DDS学会 (1999.7.8-9. 香川)
- TGF- $\beta$ 1含浸生体吸収性マイクロスフィアを用いた自家骨弁-頭蓋骨間ギャップの骨再生. 洪 流, 田畑泰彦, 山本雅哉, 宮本 亨, 橋本信夫, 筏 義人. 第15回日本DDS学会 (1999.7.8-9. 香川)
- ポリ乳酸微小気泡を用いた肝臓への遺伝子導入の超音波照射による増強. 戸田泰信, 森安史典, 松村 毅, 岸 清彦, 千葉 勉, 田畑泰彦, 筏 義人. 第15回日本DDS学会 (1999.7.8-9. 香川)
- 血管新生抑制物質: TNP-470へのポリビニルアルコール修飾による脈絡膜血管新生に対するターゲティング療法. 安川 力, 木村英也, 田畑泰彦, 宮本秀樹, 本田孔士, 筏 義人, 小椋祐一郎. 第15回日本DDS学会 (1999. 7.8-9. 香川)
- 金属配位結合を利用したinterferonの肝臓へのターゲティング. 杉之下与志樹, 森安史典, 松村 毅, 戸田泰信, 右橋龍爾, 千葉 勉, 田畑泰彦, 筏 義人. 第15回日本DDS学会 (1999.7.8-9. 香川)
- ゼラチンと相互作用した b F G F の細胞増殖活性. 石井倫裕, 田畑泰彦, 平野義明, 筏 義人. 第28回医用高分子シンポジウム (1999.7.28 東京)
- RT-PCR法を用いた新しいバイオ人工肝臓の機能評価法. 藤田 聡, 村上能庸, Paek Hyun Joon, 上田勇一郎, 朱 伯儒, 棧敷俊信, 岩田博夫, 筏 義人, 佐藤誠二, 猪飼伊和夫, 山岡義生. 第28回医用高分子シンポジウム (1999.7.28 東京)
- 生体吸収性ハイドロゲルを用いたVEGFの徐放. 宮尾 学, 田畑 泰彦, 筏 義人. 第28回医用高分子シンポジウム (1999.8.29-30. 東京)
- 細胞増殖因子の徐放化担体としてのゼラチンハイドロゲル. 山本雅哉, 尾関 真, 田畑泰彦, 筏 義人. 第48回高分子討論会 (1999.10.6~8 新潟)
- 種々の中空糸モジュールを用いたバイオ人工肝臓の試作とその機能評価. 上田勇一郎, 岩田博夫, Paek, Hyun Joon, 下岡 豊, 高寅甲, 山岡義夫, 猪飼伊和夫, 竹山 治. 第48回高分子討論会 (1999.10.6~8 新潟)
- アニオン性高分子電解質と血清補体系との相互作用に関する検討. 村上能庸, 北野悦子, 岩田博夫, 北村 肇, 筏 義人. 第48回高分子討論会 (1999.10.6~8 新潟)
- 表面プラズモン共鳴法を用いた水酸基を有する表面と補体との相互作用の解析. 平田伊佐雄, 岩田博夫, 森本要子, 村上能庸, 筏 義人, 北野悦子, 北村 肇. 第48回高分子討論会 (1999.10.6~8 新潟)
- 血管新生のための生体内吸収性ハイドロゲル徐放体の設計. 宮尾 学, 田畑泰彦, 筏 義人. 第48回高分子討論

会 (1999.10.6~8 新潟)

全血により試作バイオ人工肝臓の灌流. Hyun Joon Paek, 上田勇一郎, 高 寅甲, 下岡 豊, 日置泰典, 岩田博夫, 金沢旭宣, 竹山 治, 上杉毅彦, 西鉢隆太, 桂 長門, 猪飼伊和夫, 山岡義生. 第37回日本人工臓器学会(1999.10.15-16 名古屋)

アルガトロバン徐放型ステントの開発. 当麻直樹, 大脇久敬, 定藤章代, 岩田博夫, 滝 和郎. 第16回Metallic Stents & Grafts研究会 (1999.11.13 大阪)

徐放性細胞増殖因子を利用したTissue Engineering. 田畑泰彦. 99 Takeda Genome Urology (1999.11.13. 鎌倉)  
Nitinol Coilの開発. 当麻直樹, 川島裕幸, 岩田博夫, 滝 和郎. 第15回日本脳神経血管内治療学会 (1999.11.17~19 福岡)

非接着性シアノアクリレート系液体塞栓材料 (Isostearyl-2-cyanoacrylate) の開発と臨床応用性の評価. 大脇久敬, 定藤章代, 岩田博夫, 滝 和郎, 佐藤 徹, 川那辺吉文, 坂井信幸, 永田 泉, 菊池晴彦, 橋本信夫. 第15回日本脳神経血管内治療学会 (1999.11.17~19 福岡)

抗菌性人工真皮の開発. 河合勝也, 鈴木茂彦, 西村善彦, 田畑泰彦, 平 嗣良. 第21回日本バイオマテリアル学会大会(1999.11.19-20. 京都)

生体吸収性材料と細胞増殖因子を用いた顎骨再生に関する研究—bFGF含有ゼラチン粒子の顎骨欠損部骨再生に及ぼす影響—. 横矢重俊, 木下鞠彦, 宮本将利, 福岡真一, 大塚 亨, 水沼秀之, 田畑泰彦, 筏 義人. 第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11.19-20. 京都)

両側内胸動脈採取後の胸骨治癒におけるbasic fibroblast growth factor (bFGF) の効果. 岩倉 篤, 田村暢成, 猪飼伊和夫, 米田正始, 田畑泰彦, 中村達雄, 清水慶彦. 第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11.19-20. 京都)

細胞増殖因子を用いた体内での組織再生. 田畑泰彦. 第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11.19-20. 京都)

脈絡膜血管新生におけるエンドグリンの発現とその抗体を用いたターゲティング療法の可能性. 安川 力, 宮本秀樹, 本田孔士, 田畑泰彦, 木村英也, 小椋祐一郎. 第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11.19-20. 京都)

骨髄細胞を用いた頭蓋骨欠損部再生に及ぼす徐放化TGF $\beta$ 1の効果. 洪流, 宮本 亨, 橋本信夫, 田畑泰彦, 宮尾 学, 筏 義人. 第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11.19-20. 京都)

徐放化bFGFによるマトリゲル内での脂肪組織の新生. 宮尾 学, 田畑泰彦, 稲本 俊, 筏 義人. 第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11.19-20. 京都)

ゼラチンハイドロゲルからの細胞増殖因子の徐放化と組織工学への応用. 石井倫裕, 田畑泰彦, 平野義明, 山本雅哉, 宮尾 学, 筏 義人. 第16回関西地区ペプチドセミナー (1999.12.18 神戸)

Design of gelatin-microspheres for pulmonary, nasal and intramuscular administrations of salmon-calcitonin. K. Morimoto, H. Katsumata, T. Yabuta, K. Iwanaga, M. Kakemi, Y. Tabata, and Y. Ikada. The 26th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials (1999.6.20-25. America)

A new conjugation method based on metal coordination to enable targeting of interferon activity to the liver. Y. Tabata, and Y. Ikada. The 26th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials (1999.6.20-25. America)

In vitro evaluation of metabolic functions of a bioartificial liver. H. Iwata, T. Sajiki, H. Maeda, Y.-G. Park,

- B. Zhu, S. Satoh, T. Uesugi, I. Ikai, Y. Yamaoka, and Y. Ikada. The Fourth Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.12.1-3 Singapore)
- Bone regeneration at rabbit skull defects by biodegradable hydrogels containing transforming growth factor  $\beta 1$ . Y. Tabata, L. Hong, S. Miyamoto, M. Yamamoto, K. Yamada, N. Hashimoto, and Y. Ikada. The Forth Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.12.1-3, Singapore)
- Selective enhancement of gene transfection at the liver by use of ultrasound exposure. Y. Toda, Y. Tabata, F. Moriyasu, T. Matsumura, T. Chiba, and Y. Ikada. The Forth Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.12.1-3, Singapore)
- Targeted delivery of anti-angiogenic agent TNP-470 using water-soluble polymer in the treatment of choroidal neovascularization. H. Kimura, T. Yasukawa, H. Miyamoto, Y. Honda, Y. Tabata, and Y. Ogura. The Forth Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.12.1-3, Singapore)
- Vasucularization into a porous scaffold through controlled release of basic fibroblast growth factor. Y. Tabata, M. Miyao, M. Yamamoto, and Y. Ikada. The Forth Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.12.1-3, Singapore)
- Controlled release of growth factors from a biodegradable gelatin hydrogel for tissue engineering. M. Yamamoto, Y. Tabata, and Y. Ikada. The Fourth Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.12.1-3 Singapore)
- Cerclum phosphate-based ceramics in bone application. A. John and R. Sivakumar. The Fourth Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.12.1-3 Singapore)
- A trial to prepare collagen-hydroxyapatite composite in vitro. A. John, Y. Tabata, M. Yamamoto, R. Sivakumar, and Y. Ikada, The Fourth Asian Symposium on Biomedical Materials (1999.12.1-3 Singapore)
- Controlled Release of TGF- $\beta 1$  From A Biodegradable Hydrogel For Skull Bone Regeneration. M. Yamamoto, L. Hong, Y. Tabata, S. Miyamoto, N. Hashimoto, and Y. Ikada. The 5th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems (1999.12.12-17 Hawaii)
- Importance of drug delivery systems in tissue engineering. Y. Tabata, and Y. Ikada. 5th U.S. Japan Symposium on Drug Delivery Systems (1999.12.12-17, Hawaii)

(1) Development of germ cells and gonads. We have studied proliferation and growth regulation of mouse primordial germ cells (PGCs) by using a culture system. Recently, we developed a culture system that allows investigation of the entry into meiosis by germ cells and we found a strong inhibitory effect of the LIF/gp130 signal on the meiotic transition by cultured germ cells. Also, we tried to identify novel genes involved in sex-differentiation of germ cells and gonads by using the subtraction and differential hybridization method. We isolated several clones representing novel genes. *Nephgonadin* contains typical bHLH domains and shows an interesting and complex expression patterns during the sex-differentiation of mouse gonads. Another gene *testatin/cresp* shows very specific expression in spermatogonia and Sertoli cells in testis from the very early stage of sex-differentiation. We are now examining their functions in gonad and germ cell development. We are also trying to develop a novel method of introducing foreign genes into spermatogenic cells in the testis.

(2) Development of central nervous system. The mammalian central nervous system comprises an enormous number of cell types that develop from the neuroepithelium. We have been trying several approaches at the both cellular and molecular levels to understand how the different cell types are generated. Members of the family of bHLH transcription factors have been established to play important roles in mammalian neurogenesis and we are focusing on their gene cascades. *PHD1* is expressed downstream of *Mash1* during the differentiation of both dorsal spinal cord and olfactory sensory neurons. In contrast, other PHD genes are expressed in different lineages of neurons, suggesting that the cascade from bHLH to PHD transcription factors may be important for neuronal identity determination. A homeobox gene *MBH1* is expressed in a complementary pattern to *Mash1* and overlapping with *Neurogenin2* in the developing nervous system. In order to clarify the relation between *MBH1* and bHLH genes and between bHLH and PHD genes, we are analyzing downstream target genes of *MBH1* and the bHLH genes and their functions in cultured cells and mouse embryos.

(3) Embryonic stem cell lines. We have established many ES cell lines from various mouse strains. We are now characterizing several lines that may have advantages in study of brain function and cell transplantation, and also studying regulation of cell differentiation from ES cells in culture.

[図の説明] 胎児期の生殖系列細胞の発生分化において、卵巣内へ入った始原生殖細胞は減数分裂に移行して卵母細胞となり、精巣内では一旦増殖停止期に入って精原細胞へと分化する。このような生殖細胞の性分化を制御する分子機構の解明が待たれている。

## 【業績目録】

### ● 誌上発表 ●

#### 1) 原著論文

Stages of embryonic development of the ice goby (Shiro-uo), *Leucopsarion petersii*. T. Arakawa, Y. Kanno, T. Kitano, N. Nakatsuji, and T. Nakatsuji. Zool. Sci. 16: 761-773, 1999.

A cystatin-related gene, *testatin/cresp*, shows male-specific expression in germ and somatic cells from the initial stage of murine gonadal sex-differentiation. Y. Kanno, M. Tamura, S. Chuma, T. Sakurai, T. Machida, and N. Nakatsuji. *Int. J. Dev. Biol.* 43: 777-784, 1999.

## 2) 著書および総説

Perpendicular contact guidance of CNS neurons: is it operative in brain cortex development? K. Ono, I. Nagata, T. Hama, and N. Nakatsuji. "Neural Development" (Eds., K. Uyemura, K. Kawamura, T. Yazaki), Keio Univ. Symp. for Life Science and Medicine, 2: pp.50-56, 1999.

ヒトES細胞株樹立が意味するもの 中辻憲夫 蛋白質核酸酵素 44: 291-294, 1999.

始原生殖細胞 中辻憲夫 岩波講座「現代医学の基礎」第5巻「生殖と発生」(編者: 森崇英・山村研一), 2-8, 1999.

ヒトES細胞株の樹立とその意義 中辻憲夫 最新医学 54: 2755-2763 (1999).

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

マウス始原生殖細胞から雌雄生殖細胞への分化機構 中辻憲夫 日本発生生物学会第32回大会でのワークショップ「生殖細胞系列の発生メカニズム」(オーガナイザー: 野瀬俊明・中辻憲夫) (1999.5.29 神戸)

マウス始原生殖細胞の平面培養下での第一減数分裂前期への移行 中馬新一郎, 中辻憲夫 日本発生生物学会第32回大会 (1999.5.29 神戸)

生体内電気穿孔法によるマウス生殖細胞へのGFP遺伝子の導入 黄振勇, 桜井敬之, 田村勝, 中馬新一郎, 菅野靖彦, 斎藤哲一郎, 中辻憲夫 日本発生生物学会第32回大会 (1999.5.30 神戸)

シロウオ (*Leucopsarion petersii*) 受精卵および未受精卵へのGFP遺伝子導入 斎藤大樹, 紙本幹子, 三宅顕三, 北野忠, 秋山信彦, 木下政人, 中辻憲夫, 中辻孝子 日本動物学会第70回大会 (1999.9.28 山形)

シロウオ (*Leucopsarion petersii*) 胚8細胞期の動物極側割球除去後の胚発生 紙本幹子, 斎藤大樹, 三宅顕三, 山羽悦郎, 鈴木徹, 中辻憲夫, 中辻孝子 日本動物学会第70回大会 (1999.9.28 山形)

### 2) 講演

マウス生殖細胞の発生と性分化機構の解析 (招待講演) 中辻憲夫 東北大学加齢医学研究所シンポジウム「幹細胞と形態形成」(1999.6.18 仙台)

ヒトES細胞株の意義と今後の展望 中辻憲夫 第2回日本組織工学会におけるシンポジウム「動物クローニング, ES細胞, 細胞臓器移植の展望と問題点」(オーガナイザー: 中辻憲夫) (1999.6.26 八王子)

マウスにおける雌雄生殖細胞の発生と分化 (招待講演) 中辻憲夫 第14回「大学と科学」公開シンポジウム (1999.11.28 東京)

## 再生誘導研究分野 Department of Medical Embryology and Neurobiology

### 【研究概要】

本研究室では哺乳類を含めた脊椎動物の初期発生、特に神経系の発生制御の分子機構を中心に研究を進めている。さらにその知見をもとに試験管内での神経分化系を確立し、再生医学応用への基盤を確立する。笹井は以前に75年前ハンス・シュペーマンが予言した神経誘導因子 Chordin をアフリカツメガエルの系を用いて単離し、その機能を解析してきた。Chordin は新規の分泌因子で未分化外胚葉に作用すると、これを神経組織に分化誘導する活性を有する。Chordin のショウジョウバエの相同遺伝子 Sog もハエの神経形成の制御因子であることが判明し、広く動物界でこの因子が神経分化の上流制御因子として働いていることが明らかとなった。現在の主たるプロジェクトは、(1) 未分化外胚葉細胞から神経への分化制御機構、(2) ニューロンの多様性と領域化獲得の分子基盤、(3) マウス ES (胚性幹) 細胞からの試験管内神経分化系の確立である。(1) については主として長い研究の歴史があり分子解析が最も進んでいるアフリカツメガエルを用いて解析して、その後マウスなどに応用することを戦略としている。過去2年間に Chordin によって細胞内に活性化される下流遺伝子の系統的スクリーニングを行い、複数の興味深い遺伝子を同定した。そのうち3つの転写因子は神経予定領域にごく初期より発現しており、Chordin の神経誘導活性を媒介する因子として考えられた。それらのうち Zic-r1 と SoxD は皮膚になるはずの外胚葉細胞に強制発現させると、それを神経に分化させる神経化活性を有していた。逆に初期胚のなかで SoxD の活性をドミナント・ネガティブ変異体を用いて機能阻害すると、前脳(大脳、間脳)が発生しないことが明らかになった。もう一つの転写因子 Sox2 を同じく初期胚で機能阻害すると、神経系全体(中枢神経、末梢神経とも)の発生が抑制された。これらのことは、SoxD は前脳の発生に必須因子であり、Sox2 は神経そのものの発生に不可欠であることを示した。(2) については、神経系のパターン形成に関与する分泌因子をシグナル・ペプチド・セレクション法を用いて、系統的に単離した。そのうち新規の分泌因子 Kielin は中枢神経系の背腹軸決定の中心である底板に発現しており、興味を持たれた。胚への強制発現では筋(体節)の拡大が認められ、強い生物活性を持つことが示された。現在神経パターン形成での役割を検討中である。(3) マウス ES 細胞から試験管内で神経前駆細胞やニューロンを分化させる系を確立した。従来はレチノイン酸や細胞凝集などの煩雑な手法を要したが、我々は平面培養で簡単に神経分化を誘導する活性を種々の組織や細胞株と共培養することでスクリーニングし、分泌性の誘導活性を発見し、SDNF と命名した。これを用いて非常に高率で神経細胞を選択的に分化させることができ、現在これをさらに特定のニューロンへ分化誘導させることを検討している。

また、細川グループは遺伝的老化促進マウス SAM を用いて、遺伝学的、病理学的、及び生化学的研究を進めている。骨、関節、神経をはじめとする生体老化のモデルとして、解析を進めている。

Department of Medical Embryology & Neurobiology focuses on molecular mechanisms underlying early vertebrate development, especially development of nervous systems. We are also aiming at medical application of in vitro differentiation of neurons.

Before Sasai started his lab in this institute, he had isolated a neural inducer, Chordin, which had been predicted by the Nobel Prize winner Hans Spemann. Chordin, a novel secreted factor, can induce neural tissues



from immature ectoderm, which otherwise gives rise to epidermis. Interestingly, the *Drosophila* homologue of Chordin, sog, turned out to be an upstream regulator of neurogenesis in fly, suggesting that Chordin is used ubiquitously for neural regulator in the animal kingdom.

Our current projects are as follows:

- (1) Molecular control of neural differentiation from uncommitted ectoderm.
- (2) Molecular basis for diversity of neurons.
- (3) in vitro differentiation of ES cells into neural tissues.

(1) By using the *Xenopus* system, we have systematically searched for downstream genes of the neural inducer Chordin. We have isolated three early neural-specific transcription factors which functions in the downstream cascade of neural induction. Two of them, Zic-r1 and SoxD, can cause neural differentiation in the isolated ectoderm explants and in vivo when overexpressed. Loss-of-function studies using dominant-negative constructs showed that SoxD is required for forebrain development. The other gene, Sox2, is required for neural development in general, including both central and peripheral nervous systems. (2) We systematically screened for genes involved in cell-cell interactions during early neural patterning by using the Signal-Peptide-Selection method. One gene from this screen is a new secreted patterning factor Kielin. During early neurogenesis, Kielin is expressed in the floor plate, which plays a central role in the dorsal-ventral patterning of the developing brain. When overexpressed in the embryo, Kielin causes expansion of somites (muscle). Roles of Kielin in the CNS is now being investigated. (3) We have established an efficient system to induce neural differentiation of mouse ES cells in vitro. We have screened for activities that promote neural differentiation of ES cells and finally discovered such an activity from a certain source (we cannot describe it in detail because of patent issues). This activity, called SDNF, can efficiently and selectively induce neural precursors and neurons. By using this system, we are currently attempting to induce differentiation of specific types of neurons such as dopaminergic neurons for therapeutic purposes.

Dr. Hosokawa's group investigates mechanisms of aging by using hereditary early aging mouse, SAM. As a model for age-associated changes, extensive analyses of genetical, pathological and biochemical aspects were performed on SAM.

## 【業績目録】

### ◎ 誌上発表 ◎

#### 1) 原著論文

- Xenopus* Kielin: A novel patterning factor containing multiple Chd-type repeats secreted from the embryonic midline. M. Matsui, K. Mizuseki, J. Nakatani, S. Nakanishi, and Y. Sasai. 投稿中
- Requirement of Sox2-mediated Signaling for Differentiation of Early *Xenopus* Neuroectoderm. M. Kishi, K. Mizuseki, N. Sasai, H. Yamazaki, K. Shiota, S. Nakanishi, and Y. Sasai. Development (印刷中)
- Xenopus* Xenf: An early endodermal nuclear factor that is regulated in a pathway distinct from Sox17 and Mix-related gene pathways., J. Nakatani, K. Mizuseki, H. Tsuda, S. Nakanishi, and Y. Sasai. Mech. Dev. (印刷中)

- Assessment of DNA-protein crosslinks in the course of aging in two mouse strains by use of a modified alkaline filter elution applied to whole tissue samples. R.K.Zahn, G. Zahn-Daimler, S.Ax, M. Hosokawa and T.Takeda. *Mech. Ageing Devel.* 108: 99-112, 1999.
- Expression of c-fos gene induced by parathyroid hormone in bones of SAMP6 mice, a murine model for senile osteoporosis. N.Takeda, T.Tsuboyama, R.Kasai, K.Takahashi, M.Shimizu, T.Nakamura, K.Higuchi and M.Hosokawa. *Mech. Ageing Devel.* 108: 87-97, 1999.
- Genetic typing of the Senescence-Accelerated Mouse (SAM) strains with microsatellite markers. C.Xia, K.Higuchi, M.Shimizu, T.Matsushita, K.Kogishi, J.Wang, T.Chiba, M.F.W.Festing and M.Hosokawa. *Mammalian Genome* 10: 235-238, 1999.
- Identification of quantitative trait loci that control low peak bone mass using a spontaneously osteoporotic mouse strain, SAMP6. M.Shimizu, K.Higuchi, B.Bennett, C.Xia, T.Tsuboyama, S.Kasai, T.Chiba, H.Fujisawa, K.Kogishi, H.Kitado, M.Kimoto, N.Takeda, M.Matsushita, H.Okumura, T.Serikawa, T.Nakamura, T.E.Johnson and M.Hosokawa. *Mammalian Genome* 10: 81-87, 1999.
- Age-associated changes in elastin and collagen content and the proportion of type I and III collagen in the lungs of mice. Y.Takubo, T.Hirai, S.Muro, K.Kogishi, M.Hosokawa and M.Mishima. *Exp. Gerontol.* 34: 353-364, 1999.
- The passage of blood-borne horseradish peroxidase into the amygdaloid area of the mouse brain. M.Ueno, I.Akiguchi, M.Hosokawa, H.Kotani, K.Kanenishi and H.Sakamoto. *Histochem. Cell Biol.* 112: 265-270, 1999.
- High-linoleate and high- $\alpha$ -linolenate diets affect learning ability and natural behavior in SAMR1 mice. M.Umezawa, K.Kogishi, H.Too, S.Yoshimura, N.Seriu, A.Ohta, T.Takeda and M.Hosokawa. *J. Nutr.* 129: 431-437, 1999.
- Mouse senile amyloid deposition is suppressed by adenovirus-mediated overexpression of amyloid resistant apolipoprotein A-II. T.Chiba, K.Kogishi, J.Wang, C.Xia, T.Matsushita, J.Miyazaki, I.Saito, M.Hosokawa and K.Higuchi. *Am. J. Pathol.* 155: 1319-1326, 1999.
- Aminoguanidine supplementation delays the onset of senescence in vitro in dermal fibroblast-like cells from Senescence-accelerated mice. H.Fujisawa, T.Nishikawa, B.H.Zhu, Y.Nishimura, M.Shimizu, M.Kimoto, K.Higuchi and M.Hosokawa. *J. Gerontol.* 54A: B276-282, 1999.

## 2) 総説, 著書

オーガナイザーをめぐる概念と分子 笹井 芳樹 細胞工学 (印刷中)

The Senescence-accelerated Mouse. Section IV. Cellular and organismic consequences of protein deposition. B. Animal models of protein deposition diseases. K.Higuchi, M.Hosokawa and T.Takeda. In *Methods in Enzymology* vol. 309. Amyloid, prions, and other protein aggregates. R.Wetzel ed. Academic Press 1999, pp. 674-686.

1章4. 組織および個体レベルからみた老化. 4. 2. 個体の老化. 細川昌則. 新老年学 (第2版) 東京大学出版会 折茂 肇編, pp. 94-99, 1999.

Aging of blood-brain barrier and neuronal cells of eye and year in SAM mice. M. Hosokawa and M. Ueno. Neurobiol. Aging 20: 117-123, 1999.

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

Xenopus神経誘導におけるSox2の必要性 岸 将史, 笹井芳樹 日本発生生物学会 (5.28. 神戸市)

Kielin: A novel Midline Signaling Molecule. 水関健司, 笹井芳樹, 日本発生生物学会 (5.28. 神戸市)

新規の内胚葉特異的核内因子Xenf 中谷 仁, 笹井芳樹 日本生化学会 (10.9. 横浜市)

老化促進モデルマウス (SAM) に関する実験的研究115. 骨格筋 Tubular aggregates のマウス系統間分布と加齢変化 西川智文, 高橋 潤, 藤澤裕美, 西村泰光, 樋口京一, 夏 晨, 小岸久美子, 橋本信夫, 細川昌則 第88回日本病理学会総会 (1999.4.8. 東京)

老化促進モデルマウス (SAM) に関する実験的研究116. 変形性関節症の程度と軟骨細胞のアポトーシスの関係について 木元光俊, 松下隆寿, 細川昌則, 坪山直生, 太田 明, 清水基行, 笠井宗一郎, 中村孝志 第88回日本病理学会総会 (1999.4.8. 東京)

マウス老化アミロイドーシス(AApoAII)の伝播機構-1: アミロイド線維核の経口伝播 樋口京一, 森 政之, 千葉卓也, 中村明宏, 傅 麗, Xing Yanming, 是永龍巳, 松下隆寿, 小岸久美子, 夏 晨, 細川昌則 日本基礎老化学会第22回大会 (1999.6.16. 京都)

骨格筋 Tubular aggregates のマウス系統間分布と加齢変化 西川智文, 高橋 潤, 松下隆寿, 西村泰光, 樋口京一, 橋本信夫, 細川昌則 日本基礎老化学会第22回大会 (1999.6.16. 京都)

Ogg1遺伝子の突然変異とSAMP系マウスの老化表型との関連 森 政之, 内木宏延, 中村明宏, 千葉卓也, 近藤昌平, 豊國伸哉, 細川昌則, 樋口京一 日本基礎老化学会第22回大会 (1999.6.17. 京都)

老年性骨粗鬆症モデルマウス (SAMP6) の骨における副甲状腺ホルモンによって誘発された c-fos 遺伝子の発現 武田記和, 坪山直生, 笠井隆一, 高橋健志郎, 清水基行, 中村孝志, 細川昌則 第17回骨代謝学会 (1999.7.29. 大阪)

### 2) 講演

Downstream genes of neural inducers. 笹井芳樹 Juan March 財団 シンポジウム (5.26. マドリド)

神経初期分化の制御機構 笹井芳樹 日本神経科学会 (7.8. 大阪市)

Downstream genes of neural inducers. 笹井芳樹 千里ライフサイエンス財団シンポジウム (11.2. 吹田市)

神経誘導の下流因子による誘導とパターン形成 河崎洋志, 笹井芳樹 日本分子生物学会 ワークショップ (12.8. 福岡市)

Induction and patterning of nervous systems by downstream genes of the neural inducer, 笹井芳樹 米国細胞生物学会 (12.11. ワシントン)

脳・神経系の老化と実験モデル動物 細川昌則, シンポジウム; 脳・神経系の老化, 日本発達心理学会第10回大会, (1999.3.27. 大阪)

栄養による老化制御の試み-老化促進モデルマウス (SAM) を例として 細川昌則 シンポジウム; 食物・栄養と生活習慣病: 時間生物学と統合的視点からのアプローチ 1999年度日本農芸化学会大会 (1999.4.1. 福岡)

老化促進と老年性退行疾患のモデルとしてのSAM系統マウス 細川昌則 シンポジウム；老化モデルの最前線－

老化の多様性と普遍性を探る－ 第22回日本基礎老化学会大会（1999.6.17. 京都）

SAM系統マウス：老化促進と老年性退行変性疾患のモデル動物 細川昌則 第10回日本老年医学会東北地方会教育講演，（1999.10.9. 弘前）

老化の超微形態像－SAM系統マウスにおける老化促進と老年性退行変性疾患発症の機構－ 細川昌則，上野正樹，  
西川智文，千葉陽一，秋口一郎 日本電子顕微鏡学会・日本臨床電子顕微鏡学会合同シンポジウム；電子顕  
微鏡が21世紀に伝えるもの 第31回日本臨床電子顕微鏡学会大会（1999.11.18 東京）

## 再生増殖制御学分野 Department of Growth Regulation

### 【研究概要】

悪性腫瘍細胞の増殖制御法の基礎的研究とその臨床応用に関する研究を行っている。主なテーマは (1) 新しい低酸素細胞放射線増感剤に関する研究，(2) 低酸素下放射線照射によって活性化される新しい抗腫瘍性プロドラッグの開発，(3) 癌治療のための感受性予知試験 (predictive assay) (4) ユーゴスラヴィア，クラグイエヴァチ大学の臨床試験の指導，統計処理と総括である。(1) については，本邦で開発された KU-2285 と PR-350 の二つの新しい化合物について，培養細胞およびマウスを用いた基礎実験で従来の化合物を上回る有用性を確認した。KU-2285 については，京大医学部放射線医学教室と共同で，特に術中照射との併用についての臨床試験を施行中である。(2) では京大工学研究科物質エネルギー化学教室と共同で，新しい化合物の開発を行っている。これまでの研究で，低酸素下放射線照射によって生じる水和電子を取り込むことによって 5-フルオロウラシルに変換される化合物を開発し，培養細胞およびマウス腫瘍に対する有用性を確認した。ただし，この化合物は臨床応用が期待されるほど効果が不高いため，現在は同じ機序で活性化される別のより強力な抗癌剤のプロドラッグの開発を行っている。(3) としては，微小核形成試験を用いて肺癌手術例の腫瘍細胞の放射線感受性と増殖能を予測する方法の研究を行っているが，この方法で推定した増殖能と患者の予後の間に相関があることが，最近の分析の結果判明した。(4) ではクラグイエヴァチ大病院腫瘍科で施行された肺癌，頭頸部，脳，食道などの悪性腫瘍に対する放射線治療や化学療法の臨床試験についての分析やまとめを行っており，共同で成果を発表している。

Research works aiming at leading to improvement of cancer treatment are being carried out. Ongoing research themes are as follows. (1) In vitro and in vivo evaluation of new hypoxic cell radiosensitizers such as PR-350 and KU-2285. A fluorinated 2-nitroimidazole KU-2285 which was developed at Kyoto University is now being tested in clinics in combination with intraoperative radiotherapy, as a collaborative study with the Department of Radiology, Kyoto University Hospital. (2) Development of new types of antitumor prodrugs that are activated by irradiation under hypoxic conditions. This study is being carried out in collaboration with the Department of Energy and Hydrocarbon Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University. We have recently reported on a prodrug of 5-fluorouracil (5-FU) that is efficiently

converted to 5-FU following hypoxic irradiation. (3) Predictive assay for cancer therapy using the micronucleus test. Recently, we have found a good correlation between the proliferative activity of lung cancer cells assessed by this assay and clinical outcome in the patients. (4) Statistical analysis and reporting of clinical studies carried out at the Department of Oncology, University Hospital, Kragujevac, Yugoslavia. We have published the results of various clinical studies on hyperfractionated radiotherapy and/or chemotherapy for lung cancer, brain tumor, head and neck cancer, and esophageal cancer.

## 【業績目録】

### ● 誌上発表 ●

#### 1) 原著論文

- External beam radiation therapy alone for loco-regional recurrence of non-small-cell lung cancer after complete resection. Jeremic B, Shibamoto Y, Milicic B, Milisavljevic S, Nikolic N, Dagovic A, Aleksandrovic J, Radosavljevic-Asic G. *Lung Cancer* 23: 135-142, 1999.
- Pre-irradiation carboplatin and etoposide and accelerated hyperfractionated radiation therapy in patients with high-grade astrocytomas: a phase II study. Jeremic B, Shibamoto Y, Grujicic D, Milicic B, Stojanovic M, Nikolic N, Dagovic A, Aleksandrovic J. *Radiother Oncol* 51: 27-33, 1999.
- Primary central nervous system lymphoma in Japan: a nationwide survey. Hayabuchi N, Shibamoto Y, Onizuka Y, JASTRO CNS Lymphoma Study Group Members. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 44: 265-272, 1999.
- A phase II study of concurrent accelerated hyperfractionated radiotherapy and carboplatin/oral etoposide for elderly patients with stage III non-small-cell lung cancer. Jeremic B, Shibamoto Y, Milicic B, Milisavljevic S, Nikolic N, Dagovic A, Aleksandrovic J, Radosavljevic-Asic G. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 44: 343-348, 1999.
- Tumor response and patterns of failure following intraoperative radiotherapy for unresectable pancreatic cancer. Evaluation by computed tomography. Kanamori S, Nishimura Y, Kokubo M, Sasai K, Hiraoka M, Shibamoto Y, Hosotani R, Imamura M, Abe M. *Acta Oncol* 38: 215-220, 1999.
- Short-term chemotherapy and palliative radiotherapy for elderly patients with stage IV non-small cell lung cancer. A phase II study. Jeremic B, Shibamoto Y, Milicic B, Milisavljevic S, Nikolic N, Dagovic A, Radosavljevic-Asic G. *Lung Cancer* 24: 1-9, 1999.
- Systemic chemotherapy with vincristine, cyclophosphamide, doxorubicin and prednisolone following radiotherapy for primary central nervous system lymphoma: a Phase II study. Shibamoto Y, Sasai K, Oya N, Hiraoka M. *J Neuro-Oncol* 42: 161-167, 1999.
- Hyperfractionated radiotherapy for clinical stage II nonsmall cell lung cancer. Jeremic B, Shibamoto Y, Acimovic L, Milisavljevic S. *Radiother Oncol* 51: 141-145, 1999.
- Combined modality treatment for anaplastic oligodendroglioma. A phase II study. Jeremic B, Shibamoto Y, Grujicic D, Milicic B, Stojanovic M, Nikolic N, Dagovic A, Aleksandrovic J. *J Neuro-Oncol* 43: 179-185,

1999.

Role of radiation therapy in the combined-modality treatment of patients with extensive disease small-cell lung cancer: a randomized study. Jeremic B, Shibamoto Y, Nikolic N, Milicic B, Milisavljevic S, Dagovic A, Aleksandrovic J, Radosavljevic-Asic G. J Clin Oncol 17: 2092-2099, 1999.

Short-course radiotherapy in elderly and frail patients with glioblastoma multiforme. A phase II study. Jeremic B, Shibamoto Y, Grujicic D, Milicic B, Stojanovic M, Nikolic N, Dagovic A, Aleksandrovic J. J Neuro-Oncol 44: 85-90, 1999.

Single 4 Gy reirradiation for painful bone metastasis following single fraction radiotherapy. Jeremic B, Shibamoto Y, Igrutinovic I. Radiother Oncol 52: 123-127, 1999.

Long-term control of multiple lung metastases from osteosarcoma obtained by conventional radiotherapy: a case report. Shibamoto Y, Horii N, Takahashi M. Oncol Rep 6: 1085-1087, 1999.

Prolonged oral versus high-dose intravenous etoposide in combination with carboplatin for stage IV non-small-cell lung cancer (NSCLC): a randomized trial. Jeremic B, Shibamoto Y, Milicic B, Milisavljevic S, Nikolic N, Dagovic A, Aleksandrovic J, Radosavljevic-Asic G. Lung Cancer 25: 207-214, 1999.

Salvage radiation therapy for intracranial germinoma recurring after primary chemotherapy. Shibamoto Y, Sasai K, Kokubo M, Hiraoka M. J Neuro-Oncol 44: 181-185, 1999.

## 2) 著書および総説

放射線と正常組織反応 芝本雄太 癌の臨床 45: 253-254, 1999.

放射線治療の進歩への放射線生物学の貢献 芝本雄太 癌と化療 26: 1242-1247, 1999

頭蓋内胚芽腫の根治のために必要な線量について 芝本雄太 臨床放射線 44: 1031-1037, 1999.

---

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

Short-course radiotherapy in elderly and frail patients with glioblastoma multiforme. A phase II study. B. Jeremic, Y. Shibamoto, D. Grujicic, N. Nikolic, A. Dagovic, J. Aleksandrovic, B. Milicic. 9th International Congress on Anti-Cancer Treatment (1999.2.2 Paris, France)

The role of radiation therapy (RT) in the treatment of extensive disease small-cell lung cancer (ED SCLC). A randomized trial. B. Jeremic, Y. Shibamoto, N. Nikolic, A. Dagovic, B. Milicic. 9th International Congress on Anti-Cancer Treatment (1999.2.5 Paris, France)

OFU001, a prodrug of 5-fluorouracil that is activated by hypoxic irradiation. Y. Shibamoto, H. Hatta, L. Zhou, and S. Nishimoto. 9th International Congress on Anti-Cancer Treatment (1999. 2. 5 Paris, France)

Fundamental studies on the combination of intraoperative radiotherapy (IORT) and a hypoxic cell sensitizer PR-350 for pancreatic cancer. Y. Shibamoto, M. Tsujitani, T. Kubota, K. Kishii, M. Takahashi. 10th European Cancer Conference (1999.9.13 Vienna, Austria)

Radiosensitizing effect and pharmacokinetics of Doranidazole in suit-2 human pancreatic cancer xenografted in mouse pancreas. T. Kubota, M. Tsujitani, H. Sagitani, H. Matsuoka, Y. Shibamoto. 10th European Cancer Conference (1999.9.13 Vienna, Austria)

Hyperfractionated radiotherapy (Hfx RT) with or without concurrent low-dose daily cisplatin (CDDP) in locally advanced unresectable squamous cell carcinoma of the head and neck (SCC H&N). A prospective randomized trial. B. Jeremic, Y. Shibamoto, B. Milicic, N. Nikolic, A. Dagovic. 10th European Cancer Conference (1999.9.14 Vienna, Austria)

A new class of radiation activating antitumor prodrugs releasing 5-fluorodeoxyuridine: synthesis, reactivity and biological activity. S. Sakakibara, L. Zhou, M. Mori, H. Hatta, Y. Shibamoto, S. Nishimoto. 8th Japan-China Bilateral Symposium on Radiation Chemistry (1999.10.26 Kyoto, Japan)

Initial clinical findings of 3-D conformal radiotherapy for solitary lung tumors using a stereotactic body frame. Part 2. Treatment planning and clinical outcome. Y. Nagata, Y. Negoro, N. Araki, M. Kokubo, M. Mitsumori, K. Sasai, Y. Shibamoto, M. Hiraoka, S. Yano, T. Mizowaki. 41st Annual Meeting of American Society for Therapeutic Radiology and Oncology (1999.11.1 San Antonio, U.S.A.)

Initial clinical findings of 3-D conformal radiotherapy for solitary lung tumors using a stereotactic body frame. Part 1. Setup accuracy. Y. Negoro, Y. Nagata, M. Kokubo, N. Araki, S. Yano, M. Mitsumori, K. Sasai, Y. Shibamoto, M. Hiraoka, Y. Koga. 41st Annual Meeting of American Society for Therapeutic Radiology and Oncology (1999.11.1 San Antonio, U.S.A.)

A phase II study of radiation dose reduction for intracranial germinoma: final report. Y. Shibamoto, K. Sasai, N. Oya, M. Hiraoka. 85th Annual Meeting of Radiological Society of North America (1999.11.30 Chicago, USA)

低酸素下放射線照射によって活性化されるプロドラッグ（第二報） 芝本雄太, 周玲, 八田博司, 森繭子, 榊原進吾, 西本清一 第38回日本医学放射線学会生物部会 (1999.4.6 東京)

5-フルオロデオキシウリジン遊離機能をもつ放射線還元活性化プロドラッグの合成と抗腫瘍活性 榊原進吾, 森繭子, 周玲, 八田博司, 芝本雄太, 西本清一 第5回癌治療増感研究会 (1999.5.15 京都)

頭蓋内胚芽種に対する線量低減の第II相試験 芝本雄太, 笹井啓資, 平岡真寛, 高橋正治, 阿部光幸 第58回日本医学放射線学会 (1999.4.6 東京)

孤立性肺腫瘍に対する定位放射線照射における治療計画 永田 靖, 根来慶春, 小久保雅樹, 堀井直敏, 荒木則雄, 藤原一央, 奥野芳茂, 光森通英, 笹井啓資, 芝本雄太, 平岡真寛 第58回日本医学放射線学会 (1999.4.6 東京)

肺癌の脳転移に対する放射線治療成績－全脳照射と定位放射線照射との比較－ 永田 靖, 小久保雅樹, 芝本雄太, 平岡真寛, 池 修, 和田洋巳 第40回日本肺癌学会 (1999.10.21 札幌)

進展型肺小細胞癌の治療における放射線治療の役割 芝本雄太 第40回日本肺癌学会 (1999.10.22 札幌)

脳原発悪性リンパ腫に関する全国アンケート調査 芝本雄太, 早瀬尚文, 鬼塚昌彦 第8回日本脳腫瘍カンファレンス (1999.11.15 越後湯沢)

ヒト膀胱癌細胞の放射線感受性と低酸素細胞増感剤ドラニダゾールの効果 芝本雄太, 久保田武志, 岸井兼一, 辻谷典彦, 高橋正治 第1回日本放射線腫瘍学会 (1999.11.20 横浜)

孤立性肺腫瘍に対する定位放射線照射における治療計画と治療経過 荒木則雄, 永田 靖, 根来慶春, 溝脇尚志,

青木徹哉, 小久保雅樹, 堀井直敏, 光森通英, 笹井啓資, 芝本雄太, 平岡真寛 第12回日本放射線腫瘍学会 (1999.11.20 横浜)

非小細胞肺癌におけるGrade 5放射線肺臓炎の検討 堀井直敏, 永田 靖, 芝本雄太, 高橋正治, 平岡真寛 第12回日本放射線腫瘍学会 (1999.11.20 横浜)

肺腫瘍定位放射線照射における体幹部固定具の体位再現精度 根来慶春, 永田 靖, 小久保雅樹, 荒木則雄, 堀井直敏, 青木徹哉, 溝脇尚志, 光森通英, 笹井啓資, 芝本雄太, 平岡真寛 第12回日本放射線腫瘍学会 (1999.11.21 横浜)

## 2) 講演

Prediction of proliferative activity and radiosensitivity of human tumors by the micronucleus assay. Y. Shibamoto, Trends of Radiobiology in Radiooncology - 25 years Radiobiology in Essen - (1999.7.16 Essen, Germany)

転移制御と放射線治療: 肺癌 芝本雄太 第29回放射線による制癌シンポジウム (1999.7.2 横浜)

中枢神経腫瘍 芝本雄太 JASTRO第1回放射線腫瘍学夏季セミナー教育講演 芝本雄太 (1999.7.24 豊中)

放射線による正常組織反応の修飾 芝本雄太 第58回日本癌学会総会ワークショップ指名講演 (1999.9.30 広島)

低酸素細胞対策の新しい展開 芝本雄太 第2回東北地区放射線治療免疫研究会特別講演 (1999.10.15 仙台)

---

## 再生免疫学分野 Department of Immunology

### 【研究概要】

本分野の主要な研究課題は、造血幹細胞からT細胞への分化機構の解明である。造血幹細胞はT細胞やB細胞だけでなく、赤血球やマクロファージも含めてすべての血液系細胞をつくり出すのであるが、幹細胞は先ずそれぞれの系列に特異的な前駆細胞をつくり (コミットメント), 機能的な細胞はそれらの前駆細胞からつくられる。ごく最近に至るまで系列コミットメントの機構は全く不明で、したがってT細胞をつくるために胸腺へ移行する前駆細胞さえも同定されていなかった。本分野では昨年度までに、T, Bおよびミエロイド(M)系列への分化能を解析する方法, すなわち multilineage progenitor (MLP) assay 法を開発し、胸腺へ移行してT細胞をつくる前駆細胞はT系列へコミットされたものであることを明らかにした。さらにこのMLP法によって、従来は赤血球/ミエロイド系列に限定されていた前駆細胞の研究を、T, Bリンパ球を含めた領域へと広げること成功した。

マウス胎仔肝臓中の個々の造血前駆細胞の分化能を解析した結果、ミエロイド(M), T, B系列へ分化しうるもの (p-MTB), M, T系列あるいはM, B系列の2系列系へ分化するもの (p-MT と p-MB) および1系列へのみ分化するもの (p-M, p-T および p-B), 合わせて6種類の前駆細胞の存在が明らかとなった。この中には、実験的根拠がないままにその存在が予想されていたT, Bリンパ球へ分化しうる前駆細胞 (p-TB) は含まれていない。すなわち、T細胞とB細胞はそれぞれ独立に、ミエロイド系列を軸として決定・分化するものと考えられた。また、p-TBが存在しないということは、造血のプロセスに対する考え方を根本的に変更することを迫るものである。従来は、多種類の血液細胞への分化は確率的な過程で決まるという考え方が主流であったが、これは成り立たないことになっ



た。造血系においても、他の細胞の発生分化と同じく決定の段階を繰り返しつつ分化するものと考えらるべきである。

MLP assay の開発に至った動機は、T細胞をつくるべく胸腺へ移行する前駆細胞とはどのようなものかという疑問であった。胎生12日目のマウス胎仔肝臓中に存在し、T細胞をつくりうる前駆細胞は p-MTB, p-MT, p-T の3種類である。一連の研究によって、血流に乗って胎仔胸腺へ移行しT細胞を生成するのは p-T だけであることが明らかとなった。胎生10日目のマウスの Aorta-Gonads-Mesonephros (AGM) 領域にも胎仔肝臓と同様な前駆細胞が少数ながら存在する。胎生11日目までは血液中に少数の p-MTB も検出され、AGM 領域でつくられた幹細胞が血流に乗って移動し肝臓系へ移行することが示唆された。

MLP 法は、赤白血球系列やナチュラルキラー系列へのコミットメントの研究へも応用できるよう改良することができる。NK 系列とT系列への分化を同時に解析できるクローナル培養を用いて胸腺内前駆細胞の分化能をしらべると、最も未分化な段階ではすべてT/NK両系列への分化能を保有していることが明らかとなった。さらに、分化段階が進むにつれてNK分化能を徐々に切り離して行くことが示された。

胸腺内におけるT細胞の増殖・分化にはストローマ細胞の関与が不可欠である。にもかかわらずストローマ細胞の役割りは明らかでない。その理由はストローマ依存性の増殖や分化を解析できる *in vitro* の実験系が確立されておらず、したがって適切な研究手段がないことにある。本分野では、BALB/c マウスの胸腺腫からストローマ細胞依存性に増殖するプレT細胞株を樹立して、初期T細胞の分化と増殖におけるストローマ細胞の役割りと、その分子機構を解析している。これまでの結果から、プレT細胞株のストローマ依存性増殖にはヘテロ3量体 GTP 結合蛋白 (Gai) が関与しており、これに共役して働く受容体は CXCR4、そのリガンドはケモカイン SDF-1 であることが明らかとなった。T細胞の増殖におけるG蛋白と SDF-1/CXCR4 の関与が明らかになったのは、この研究が初めてである。

T細胞分化の中・後期段階はT細胞抗原受容体 (TCR) 遺伝子の再構成を中心に進む。αβT細胞系列における TCR α鎖遺伝子の再構成機構を明らかにするために、Vα2, Vα8, Jα 領域の germline 転写に関する研究を行っている。正常マウスおよび Rag-2<sup>-/-</sup> マウスの胸腺における germline 転写の解析から、再構成の機序について多くのことが明らかになりつつある。たとえば Vα2 germline 転写はβ鎖遺伝子再構成以前から検出され、preTCR/CD3からのシグナルが入っても転写量に変化はない。一方、Vα8 germline 転写はβ鎖遺伝子再構成後に検出され、preTCR/CD3からのシグナルが入っただけでは転写開始されない。さらに、TEA-Cα転写産物はpreTCR/CD3からのシグナルが入った直後、急激に増加する。これらの実験結果から、Vα領域の一部はβ鎖遺伝子再構成以前からオープンで、Jα領域のオープニングによりα鎖遺伝子再構成が開始されることが明らかとなった。

The main field of research in this department concerns the development of T cells from hematopoietic stem cells. An experimental system to examine the developmental capability of individual hematopoietic progenitors to generate T, B and myeloid (M) cells has been established in our department. By using this system, named multilineage progenitor (MLP) assay, we are investigating the process of lineage commitment of hematopoietic progenitors. Previously, the first step of the commitment of the stem cell has been thought to be the split between erythro-myeloid (E/M) and lymphoid (T/B) lineages. Studies in this department elucidated that T and B cell lineage committed progenitors (p-T and p-B, respectively) are produced through a completely different path way. p-T, p-B and myeloid progenitor (p-M) were found to be generated from multipotent progenitors through bipotent p-MT and p-MB stages.

Our current study concerns the isolation and characterization of p-T. It is found that a large majority of thymic as well as prethymic p-T are bipotent to generate T and NK cells. Our project include also the role of thymic environment for differentiation and growth of T cells as well as the mechanism of T cell receptor gene rearrangement.

## 【業績目録】

### ● 誌上発表 ●

#### 1) 原著論文

- Emergence of T cell lineage restricted progenitors at the earliest stage of hematopoiesis in the murine fetal liver. H. Kawamoto, K. Ohmura, S. Fujimoto, and Y. Katsura. J. Immunol. 162 : 2725-2731, 1999
- Thymic microenvironments, 3-D versus 2-D? W. van Ewijk, B.-P. Wang, G. Hollander, H. Kawamoto, E. Spanopoulou, M. Itoi, T. Amagai, Y.-F. Jiang, W.T.V. Germeraad, W.-F. Chen, and Y. Katsura. Seminars in Immunology 11 : 57-64, 1999
- A cell-autonomous requirement for CXCR4 in long-term lymphoid and myeloid reconstitution. K. Kawabata, M. Ujikawa, T. Egawa, H. Kawamoto, K. Tachibana, H. Iizawa, Y. Katsura, T. Kishimoto, and T. Nagasawa. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 96 : 5663-5667, 1999
- Characterization of distinct subpopulations of Japanese flounder lymphocytes with monoclonal antibody against serum immunoglobulin. Y. Tokuda, H. Toyohara, T. Kina, and M. Sakaguchi. Fisheries Science 65 : 347-352, 1999
- Selective expression and function of granzyme D in lymphohematopoietic stromal cells. A. Yokoi, T. Kina, and N. Minato. Biochem. Biophys. Res. Commun. 264 : 768-773, 1999
- Emergence of T, B and myeloid lineage commitment as well as multipotent hematopoietic progenitors in the AGM region of day 10 fetuses of the mouse. K. Ohmura, H. Kawamoto, S. Fujimoto, S. Ozaki, K. Nakao, and Y. Katsura. J. Immunol. 163 : 4788-4795, 1999
- Commitment of common T/NK progenitors to unipotent T and NK progenitors in the murine fetal thymus revealed by a single progenitor assay. T. Ikawa, H. Kawamoto, S. Fujimoto, and Y. Katsura. J. Exp. Med. 190 : 1617-1625, 1999

#### 2) 著書および総説

- T細胞系列へのコミットメント 桂 義元, 河本 宏 免疫Immunology Frontier 9(1) : 5-11, 1999
- $\alpha\beta$ 型T細胞と $\gamma\delta$ 型T細胞への分化経路 河本 宏, 桂 義元 臨床免疫 31(3):272-281, 1999
- 造血幹細胞からリンパ球系列へのコミットメント 桂 義元, 河本 宏 実験医学増刊号 17(9) : 97-103, 1999
- 胸腺T細胞の分化に白血球特異的アダプタータンパク SLP-76が必要である. 藤本真慈, 桂 義元. 臨床免疫 31(6) : 710-716, 1999
- 造血幹細胞と血液・リンパ球の再生 桂 義元, 大村浩一郎, 河本 宏 現代医療 31(12) : 49-54, 1999
- TCF-1/LEF-1 藤本真慈, 桂 義元 実験医学別冊 Bio Science 新用語ライブラリー 転写因子第2版 p.160-161,

1999

Reconsideration of the process of early hematopoiesis : A new concept proposed from studies with the multilineage progenitor assay. Y. Katsura. The Keio Journal of Medicine 48(3) : 156, 1999

### 3) 学会・研究会記録・報告書

桂 義元 : T細胞初期分化の分子機構. 文部省科学研究費補助金. 重点領域研究平成10年度研究成果報告書. 1999.3

桂 義元 : 血液系前駆細胞における系列コミットメントの検証. 長寿医療委託研究 研究報告集. 1999.3

喜納辰夫 : T系前駆細胞の分化と増殖機構の研究. 文部省科学研究費補助金. 基盤研究 (C)(2) 平成9-10年度研究成果報告書. 1999.3

桂 義元 : KTCCの歩みと今後. JSI Newsletter(日本免疫学会会報 7(2):20 1999.10

### ● 学会等の講演 ●

#### 1) 学会・研究会・発表

胸腺T前駆細胞のTCR遺伝子再構成以前における増殖 河本 宏, 藤本真慈, 大村浩一郎, 桂 義元 第2回京都免疫ワークショップ (1999.2.20 京都)

マウス10日目胎仔におけるpre-hematopoietic stem cellの同定 大村浩一郎, 河本 宏, 桂 義元 第61回日本血液学会総会 (1999.4.19 東京)

マウス胎生期造血におけるT前駆細胞およびB前駆細胞の発生 河本 宏, 大村浩一郎, 桂 義元 第61回日本血液学会総会 (1999.4.19 東京)

Stem cells, BFU-E, C-FUE, erythroblastsの表面抗原による分画 勝部好裕, 河本 宏, 桂 義元 第5回近畿臍帯血幹細胞移植研究会 (1999.5.8 大阪)

On the process of lineage commitment of the hematopoietic stem cell to T, B and myeloid cells. Y. Katsura. 8th International Symposium on the Molecular Cell Biology of Macrophages '99. (1999.6.19 東京)

The process of commitment of the hematopoietic stem cell to T, B and myeloid cell lineages. Y. Katsura. The 6th Meeting of Transplantation/Immunoregulation 21 (1999.10.16 東京)

胎仔胸腺内における前駆細胞からTおよびNK系列へのコミットメント 伊川友活, 河本 宏, 藤本真慈, 桂 義元 第6回近畿臍帯血幹細胞移植研究会 (1999.11.6 大阪)

Prethymic and intrathymic steps of the lineage commitment of progenitor cells toward T cells. H. Kawamoto, and Y. Katsura. 第29回日本免疫学会学術集会シンポジウム (1999.12.1 京都)

Newly identified lymphoid cell lineage contributors to peyer's patch development and differentiations into natural killer- and dendritic-cells. H. Yoshida, H. Kawamoto, H. Hashi, K. Honda, S. Nishikawa, Y. Katsura, and S-I. Nishikawa. 第29回日本免疫学会学術集会シンポジウム (1999.12.2 京都)

多能造血幹細胞をin vitroで検出できるシステムの確立 勝部好裕, 河本 宏, 桂 義元 第29回日本免疫学会学術集会 (1999.12.1 京都)

yolk sac中の多能前駆細胞の解析 大村浩一郎, 河本 宏, 桂 義元 第29回日本免疫学会学術集会 (1999.12.1 京都)

マウス11日目胎仔末梢血中にみられる前駆細胞の分化能の解析 陸 敏, 大村浩一郎, 河本 宏, 桂 義元 第29回日本免疫学会学術集会 (1999.12.1 京都)

胸腺T前駆細胞のTCR  $\beta$  鎖遺伝子再構成以前における増殖 藤本真慈, 河本 宏, 伊川友活, 桂 義元 第29回日本免疫学会学術集会 (1999.12.1 京都)

胸腺中に存在するDCとT系列へ分化するbipotent progenitor 沈 恵卿, 河本 宏, 伊川友活, 陸 敏, 桂 義元. 第29回日本免疫学会学術集会 (1999.12.2 京都)

T系列およびNK系列へのcommitmentはTCR遺伝子再構成とは無関係に起こる 伊川友活, 河本 宏, 藤本真慈, 桂 義元. 第29回日本免疫学会学術集会 (1999.12.3 京都)

ケモカインSDF-1/PBSFおよびその血球細胞上の受容体CXCR4の成体造血における機能の解析 川端健二, 氏川郁穂, 柴川 健, 河本 宏, 飯笹 久, 橘 和延, 岸本忠三, 桂 義元, 長澤丘司 第29回日本免疫学会学術集会 (1999.12.3 京都)

SDF-1欠損マウス由来ストローマ細胞株の造血支持能の解析 喜納辰夫, 柴川 健, 長澤丘司, 桂 義元 第29回日本免疫学会学術集会 (1999.12.3 京都)

$\gamma \delta$  T系列への決定とTCR  $\gamma$  鎖遺伝子の再構成 藤本真慈, 河本 宏, 桂 義元 第22回分子生物学会年会 (1999.12.7 福岡)

## 2) 講演

Reconsideration of the process of early hematopoiesis : A new concept proposed from studies with the multilineage progenitor assay. 桂 義元 慶應義塾大学医学部特別セミナー (1999.4.20 東京)

T前駆細胞のself renewal —— T細胞repertoireを拡げる機構 桂 義元 名古屋市立大学医学部大学院免疫生物学セミナー (1999.11.15 名古屋)

## 生体システム医工学研究部門

### 医用システム工学分野

### DEPARTMENT OF MEDICAL SYSTEMS ENGINEERING

#### 【研究概要】

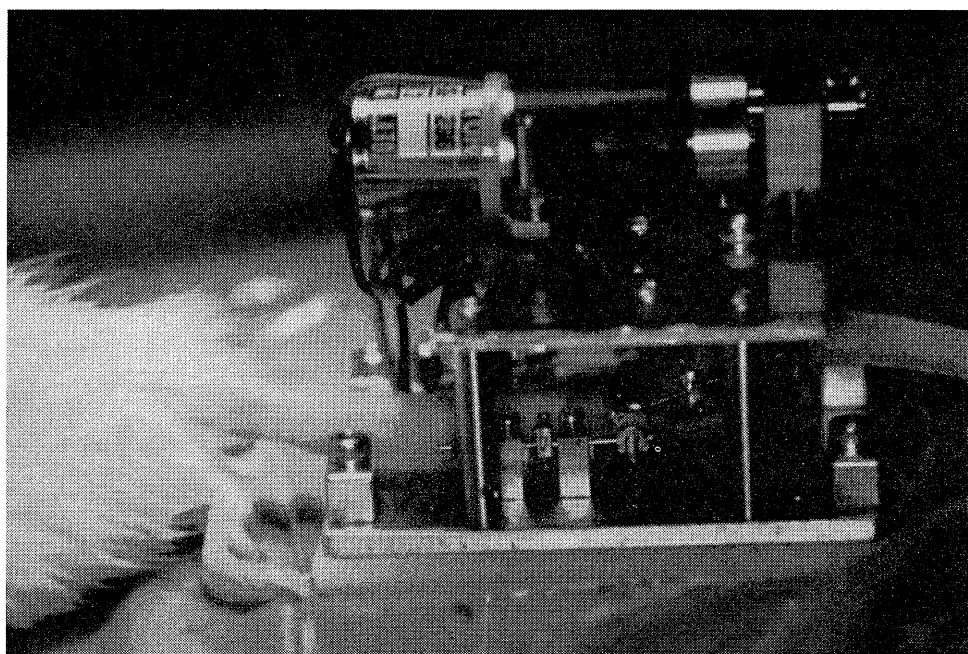
本研究分野の目的は、信頼性の高い医工学治療法を開発するために医学と工学が融合した研究開発、評価システムを構築することである。例えば、単純化された基礎実験は実験系としての信頼性は高くとも、臨床における複雑な状況を再現していなければ実用化されたときの信頼性を保証することができない。“Clinically relevant”な研究を実践するために本分野では医師、エンジニア、獣医師、薬剤師、企業研究者を交えて集学的な開発研究を行っている。

1999年度も従来のごとく開発を主眼に研究が行われたが、臨床を模した複雑な実験系で得られた結果のメカニズムを探るための基礎実験が数多く計画されたのが特徴であった。

膝関節機能の再建に関しては、従来から行ってきた人工関節の耐久性研究と、軟骨、半月板、靱帯の再生実験とが融合して、人工再生関節（Total Knee Regeneration）の開発研究が始まった。この方法は、人工関節の利点であった早期運動、早期離床を実現しながら関節組織の再生を行うもので、そのインプラント型装置の開発は動物実験段階であるが創外固定型の器具は既に共同研究者らによって臨床応用が検討されている。これらの装置の開発によって、いったん中断していた半月板の再生実験も開始された。また、人工再生関節の最適力学環境を模索するために、ラットを用いた無荷重モデルや尾部に一定の力学的刺激を加えて関節組織そのものを再生させる実験を行っている。

人工関節用ポリエチレンの疲労及び劣化に関する研究では、開発したビタミンE含有ポリエチレンの高耐久性及高耐摩耗性のメカニズムを探るために、従来の2次元自在型滑り疲労摩耗試験に加えて、疲労試験、簡易シミュレータ試験、粘弾性測定、表面粗さ測定等を行った。

骨結合性、吸収性人工靱帯の開発では、ポリ乳酸人工靱帯の臨床知見が行われているが、さらにピエゾ効果を考



慮したヘリカル構造を有するポリ乳酸を開発し、その効果を測定している。

小児及び障害者用インターフェースの開発研究では実際に京都市内の老人パソコングループ「金曜サロン」と京都大学付属病院小児科プレールームとを結ぶネット「コロ郵便局」を開始し、子供と老人の通信にたずさわる多くの知見を得ることができた。

人工膝関節の力学的最適化設計は、高屈曲と耐久性を考慮した安定多関節型人工膝関節「ASUKA」がほぼ完成し、米国West Virginia Univ.の協力によってフレッシュキャダバーも用いた模擬手術とバイオメカニクス測定を無事終了した。

癒着防止の定量評価では、乳酸-カプロラクトン共重合多孔質膜にヒアルロン酸を添加する事によって癒着防止効果のみならず、副作用である腱の壊死性変化も抑制されることが判明した。そのメカニズムを現在も研究中である。

磁気の生体に及ぼす影響に関する研究では、静磁気の局所照射が骨量の減少した骨の骨形成を有意に上昇させる事実が明らかとなった。また、他家の研究から静磁気の血流増加効果も報告されている。我々は磁気のイオン透過性に及ぼす影響の測定などからそのメカニズムを模索している。

Aim : To develop medical devices and biomaterials by systematizing medical and engineering technique and performance.

This department develop and evaluates the performances of clinically applicable biomaterials by the methods simulating each of the clinical applications. The present subjects of study are as follows.

1. (Developing "Total Knee Regeneration" System)
2. (Human Interface for Child and Handicapped person)
3. (Mechanical Designing for Artificial Knee Joint)
4. (Anti-adhesive Material and Biomechanics of Hand)
5. (Fatigue and Wear Properties of UHMWPE Joint Component)
6. (Artificial Ligament)(Measuring Fixation performance of Biomaterials)  
(Bioabsorbable Fixation Devices)
7. (Effects of Magnetic Field on Tissue)
8. (Handling Characteristics of Medical Devices)
9. (Sports Biomechanics)
10. (Implantable Mechanical Sensors)
11. (Surface Lubrication for Biomaterial)

## 【業績目録】

### ◎ 誌上発表 ◎

#### 1) 原著論文

Effect of sliding locus on subsurface crack formation in ultra-high-molecular-weight polyethylene knee component. S. Todo, N. Tomita, T. Kitakura and Y. Yamano. Bio-medical Materials and Engineering, 9 : 13-20, 1999

- Marrow Cell Culture on Poly-L-Lactic Acid Fabrics. Y. Hasegawa, H. Ohgushi, M. Ishimura, T. Habata, S. Tamai, N. Tomita and Y. Ikada. Clinical Orthopaedics and Related Research, 358 : 235-243, 1999
- Design Concept of Artificial Knee Joint for High Durability Naohide Tomita Joint Arthroplasty Springer-Verlag : 337-344, 1999
- Prevention of fatigue cracks in hip and knee polyethylene components by addition of vitamin E. N. Tomita T. Kitakura Y. Ikada and E. Aoyama Journal of Biomedical Research, 48 : 474-478, 1999
- テレメーターを用いた生体内力学環境の測定（第一報）. 原田恭治, 富田直秀, 池内 健, 岡 正典, 木下 徹, 青山栄一 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 63-65, 1999
- 各種縫合糸の縛りやすさの研究. 門野邦彦, 玉井 進, 富田直秀, 富畑賢司 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 261-265, 1999
- UHMWPEの機械特性に及ぼす $\gamma$ 線滅菌及びvitamin E添加の影響. 北倉隆寛, 富田直秀, 青山栄一, 御守直樹 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 303-305, 1999
- ポリ乳酸紐の皮質骨内における固定性に関する研究. 平岡修治, 石村雅男, 玉井 進, 富田直秀, 筏 義人 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20 : 329-332, 1999
- ARTICULATING SHAPE DESIGNING FOR ARTIFICIAL KNEE JOINT. N. Tomita. Bioceramics, Vol.12 : 601-604, 1999

## 2) 著書および総説

- 人工関節材料としてのポリエチレン-疲労破壊とdelamination-. 富田直秀 関節外科, 18(12) : 30-36, 1999
- シンポジウム-日本における新しい人工膝関節の開発 総論：人工膝関節開発の基本理念 富田直秀 臨床整形外科, 34(2) : 119-126, 1999

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

- 人工関節用UHMWPEに及ぼすVitamin E 添加の効果. 富田直秀, 御守直樹, 北倉隆寛, 青山栄一 第19回バイオトライボロジシンポジウム (1999.3.13. 東京都)
- 人工関節用UHMWPEの粒界に及ぼす $\gamma$ 線滅菌の影響 (ビタミンE添加の効果). 富田直秀, 御守直樹, 北倉隆寛, 青山栄一 日本機械学会第11回バイオエンジニアリング講演会 (21世紀の新産業に役立つバイオエンジニアリング) (1999.3.29-30 つくば市)
- チタン製インプラントのチタン溶出メカニズム. 慕 鷹, 富田直秀 第19回人工関節の機能高度化研究会 (1999.5.8. 岡山市)
- 摺動面設計を基にした高耐久性高屈曲人工膝関節の製作. 御守直樹, 富田直秀, 北倉隆寛, 青山栄一 1999年度日本機械学会年次大会講演会 (1999.7.28. 東京都)
- Metal ion release from titanium with active oxygen species generated by rat macrophages in vitro. Y. Mu , N. Tomita. The Fourth International Symposium on Tissue Engineering for Therapeutic Use (1999.9.23-24. 京都市)
- 関節軟骨の衝撃破壊に関する研究（第一報）. 原田恭治, 富田直秀, 大幡里絵, 岡 正典 日本機械学会第10回バイオエンジニアリング講演会 (1999.10.1-3. 北九州市)

軟骨再生における力学的環境の設定に関する研究. 原田恭治, 富田直秀, 慕 鷹, 岡 正典 第37回人工臓器学会 (1999.10.15-16. 名古屋市)

高速荷重下での関節軟骨の破壊に関する研究 (第一報). 原田恭治, 富田直秀, 大幡里絵, 岡 正典 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7. 京都市)

UHMWPEの内部クラックに及ぼす摺動軌跡の影響 (第2報). 御守直樹, 富田直秀, 山本浩司, 北倉隆寛, 青山栄一 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7. 京都市)

テレメーターを用いた生体内力学環境測定を試み (第一報). 原田恭治, 富田直秀, 岡 正典 第20回動物臨床医学会年次大会 (1999.11.20-21 大阪)

Effects of Static Magnetic Field on Bone Formation of Rat Femurs. 大幡里絵, 徐 慎之, 富田直秀, 筏 義人 INTERNATIONAL WORKSHOP ON CHEMICAL, PHYSICAL AND BIOLOGICAL PROCESSES UNDER HIGH MAGNETIC FIELDS (1999.11.24-26 埼玉県)

Preparation of osteoporosis-model with high reproducibility. 大幡里絵, 徐 慎之, 富田直秀, 筏 義人 THE FOURTH ASIAN SYMPOSIUM ON BIOMEDICAL MATERIALS (1999.12.1-3. シンガポール)

---

## 生体機械工学分野 Department of Biomechanical Engineering

### 【研究概要】

医学の最終目的は病気を治療することではなく、本来の生活の質 (QOL) を再生させることである。本分野では機械工学、生体力学を医療に応用して細胞、組織、器官における機能の再生とその評価に関する研究を行っている。1999年における研究内容は次の通りである。

#### 1. セラミック/セラミック人工関節のトライボロジー

セラミック同士を組み合わせる人工関節のトライボロジー特性と設計法の研究を行っている。総セラミック人工関節は、耐久性が高いだけでなく生体反応が生じないので再置換が必要となることが少ない。すでに臨床応用されているアルミナに加えて炭化珪素が次世代の人工関節に用い得ることを見だし、加工精度、表面あらし、環境の摩耗に及ぼす影響を調べた。

#### 2. 膝半月板の機能の解明と再生

軟組織の変位を精密に計測するために二種類のプローブを開発した。膝関節に関節荷重に加えて外力が加わるときの半月板の変位を計測して力学機能を調べ、損傷したり切除された半月板の機能を再生させる方法を追求した。

#### 3. 低侵襲医療機器の開発研究

消化管の内部の粘液を利用して、周囲の組織と接触すること無く内視鏡、カテーテル、体内ロボットを推進させる技術を開発し、イヌの消化管の内部で移動させることに成功した。

また外部からの磁力によって曲がった血管内でカテーテルを誘導する技術を開発した。

#### 4. 福祉介護機器の開発

高齢者を含む障害者の介護のために患者と介護者のQOLを向上させる省力介護機器が求められている。寝たき



## 再生統御学研究部門

### 発生分化研究分野

### Department of Development and Differentiation

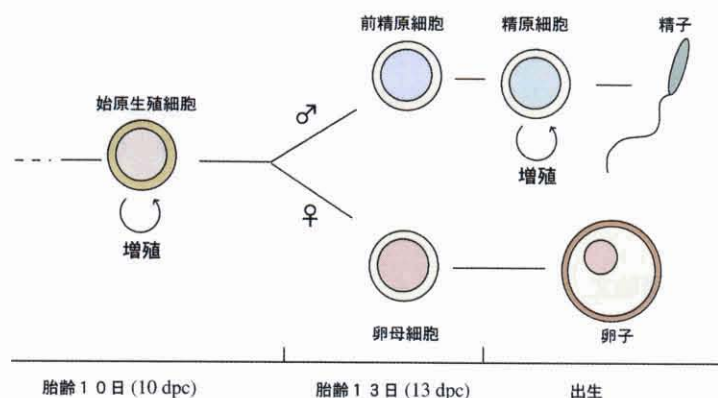
#### 【研究概要】

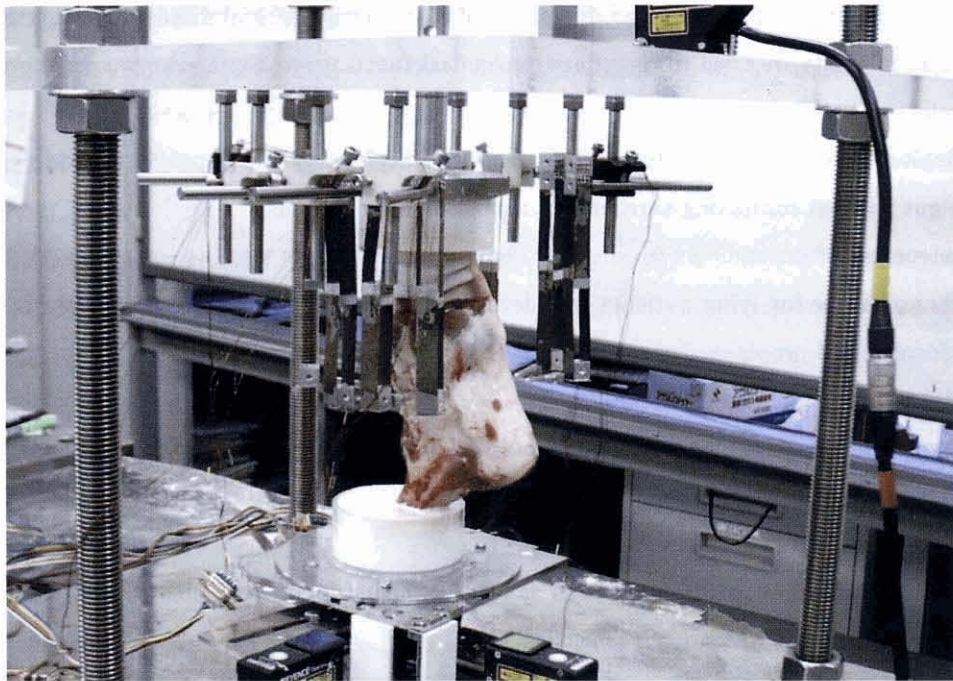
マウスなどの哺乳類における受精から妊娠中期までは、多能性幹細胞から各細胞系列への分化、脳などの中枢神経系の形成、卵子や精子を将来作り出す始原生殖細胞の出現と卵巣や精巣の分化などの重要な現象が起きる。当研究室では始原生殖細胞の増殖分化や、卵子や精子の形成へ向かう細胞分化が雌雄で異なって起こる性分化について研究している。また中枢神経系などを作る多種類の細胞の起源になる幹細胞に注目して、培養下や生体内での細胞分化と関係する遺伝子の機能を研究している。さらに胚幹（ES）細胞を含む各種幹細胞や生殖系列細胞を用いた発生工学に関する研究を行っている。

(1) マウス生殖細胞の発生分化機構：我々の研究室ではこれまでに、始原生殖細胞の体外培養系を確立して培養下における増殖制御因子の研究を行ってきたが、これまでは困難であった生殖巣到着後の時期の培養方法を改良して雌性生殖細胞が減数分裂を開始する過程を培養下で進行させることに成功した。これを用いて、減数分裂への移行を制御する LIF/gp130 などサイトカインとシグナル伝達系や、雌雄生殖巣体細胞との相互作用について解析を進めている。他方、生殖細胞や生殖巣の性分化開始時期に特異的に発現する遺伝子の検索を差次的クロニング法を用いて行い、その結果得られた幾つかの新規遺伝子の解析を行っている。性分化に伴って体細胞で複雑な発現パターンを示す bHLH 型転写因子 *nephronadin* や、精巣分化の初期から精原細胞とセルトリ細胞に極めて特異的に発現する *testatin/cresp* について機能解析を進めつつある。また、精巣内生殖細胞への直接的遺伝子導入方法を開発しつつあり、減数分裂開始時期での遺伝子組み込みを狙った新たな発生工学手法の確立を目指している。

(2) 神経細胞の発生・分化を制御する転写因子：哺乳類の神経系には多種多様な神経細胞が存在している。これらの神経細胞の発生はHLH型転写因子で制御されることが明らかになってきている。我々は個々の神経細胞の分化において、HLH型転写因子から Paired 様ホメオドメイン（PHD）転写因子へのカスケードが存在するとともに、HLH型転写因子の *Mash1* や *neurogenin2* の発現が、*BarH* ホモログの *MBH1* ホメオドメイン転写因子で調節されることを示してきた。神経細胞の多様性が、これらの転写因子のカスケードでどの様に制御されるのかを分子レベルで解明するため、関係する遺伝子群の転写制御、細胞培養系での機能解析、そして動物胎仔や個体レベルでの解析を進めている。

(3) ES 細胞株の樹立と分化制御：当研究室ではこれまで多くのマウス系統から ES 細胞株を樹立した。現在脳機能研究や移植実験などに有利と思われるマウス系統から ES 細胞株を樹立して特性解析を行なうとともに、培養下での分化制御について研究している。





り患者のシートを簡単に交換できる機械を開発し、入浴とシャワーへの応用を試みた。

#### 5. 超音波による生体物性の計測

超音波の反射波をフーリエ変換して多層組織の物性と結合状態の3次元分布を調べた。

#### 6. ステンットの力学特性

心臓冠動脈、頸動脈の治療後に挿入するステントの力学特性は再狭窄の発生率に影響する。

そこでステントの変形特性を有限要素解析と実測によって解明し、血管内皮細胞の増殖を抑制して再狭窄を防ぐ力学特性とそれに基づく設計法を明らかにした。

#### 7. 機械刺激に対する骨芽細胞の応答

機械刺激によって細胞の形態、物性、機能が変化する。培養中の骨芽細胞に流体による周期的な圧力とせん断応力を加えた後に分析することによってその変化を調べた。

#### 8. 歯科口腔機能の再生のための補綴物製作システムに関する研究

高齢化等による歯科口腔機能の損傷および低下の再生に用いられる補綴材料は生体親和性の良い材質のものが用いられるが、その加工法はしばしば困難であることがある。そこで、このような材料の加工法を追求し、生物学的適合性、力学的適合性および形態的適合性に優れた歯科補綴物の製作システムについて研究している。

The research activities of the Department of Biomechanical Engineering in 1999 are summarized as follows:

##### 1. Tribology in ceramic/ceramic joint prostheses

Friction and wear were measured for alumina, zirconia, silicon nitride and silicon carbide ceramics sliding in water solutions. It was found that alumina and silicon carbide can be applied to all ceramic prostheses for permanent replacement because of their excellent wear resistant abilities.

##### 2. Investigation and reproduction of function of knee menisci

A new method for accurate measurement of soft tissue displacement was proposed, and it was applied to

measure displacement of the knee menisci. It was found that the menisci stabilize knee motion under external forces. Several methods are tried to reproduce mechanical functions of damaged or resected meniscus.

3. Development of low invasive medical devices

A new technology of hydrodynamic propulsion of medical devices was developed. A micro-robot was driven in a canine gut without contacting surrounding tissues by use of mucus.

4. Development of instruments for disabled people

A bed sheets exchanger for lying patients was developed and applied to laborsaving cares in bathing and showering for disabled people.

5. Ultrasonic measurement of tissues

3-dimensional distribution of the mechanical properties of layered tissues was measured by ultrasonic method and analysis with Fourier transformation.

6. Mechanical properties of vascular stents

Finite element analysis was performed as well as measurement for coronary stents. Methodology to design coronary stents to prevent restenosis was settled.

7. Investigation of cell change in response to mechanical stimuli

Periodic pressure and shear stress were applied to cultured osteoblasts with a stationary disc or a stepped rotating disc keeping noncontacting condition between the disc and the cells. By means of comparative analysis of the cells before and after the stimulation, the effects of mechanical stimuli on shape, properties and function of the cells were investigated.

8. Development of materials processing systems for dental prostheses Materials processing systems, especially for metal materials, in a dental field are investigated. The purpose of this study is to reproduce the oral function by establishing production systems of dental prostheses which have excellent biological-, mechanical- and morphological-compatibility.

## 【業績目録】

### ◎ 誌上発表 ◎

#### 1) 原著論文

Friction and Wear Tests of Ceramics for All-Ceramic Artificial Joints. K. Ikeuchi, K. Takashima, M. Ohashi and J. Kusaka. Joint Arthroplasty : 132-139, 1999

Precise Measurement of Meniscus Displacement in the Knee Joint. K. Ikeuchi, R. Sakaue, K. Tsuji and H. Sakota. JSME International Journal, Series C, 42(3) : 539-544, 1999

Time-dependent wear process between lubricated soft materials. K. Ikeuchi, J. Kusaka, D. Yamane, S Fujita. Wear, 225-229 : 656-659, 1999

Fundamental study for all-ceramic artificial hip joint. J. Kusaka, K. Takashima, D. Yamane, K. Ikeuchi. Wear, 225-229 : 734-742, 1999

バイオトライボロジーの現状と今後の展開 池内 健 トライボロジー, 1月号 : 32-34, 1999



- 関節の摩擦, 摩耗, 潤滑について 池内 健 リウマチ科, 21(3): 213-217, 1999
- テレメーターを用いた生体内力学環境の測定 (第一報) 原田恭治, 富田直秀, 池内 健, 岡 正典, 木下 徹, 青山栄一 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20: 63-65, 1999
- ステントの構造が半径方向強さに及ぼす影響 森 浩二, 池内 健, 光藤和明 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20: 267-271, 1999
- 外部圧力がStentの変形挙動におよぼす影響に関する研究 森 浩二, 池内 健, 光藤和明 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20: 273-277, 1999
- ハイドロゲルを被覆したポリエチレン骨頭の摩擦特性 石川泰成, 笠田 直, 池内 健 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20: 325-328, 1999
- 膝関節の衝撃伝達機構に関する力学的研究・下肢アライメントの変化について 福田幸久, 高井信朗, 平澤泰介, 吉野信之, 池内 健, 森 浩二, 堤 定美, 村瀬晃平 日本臨床バイオメカニクス学会誌, 20: 417-421, 1999

## 2) 著書および総説

- 歯科レーザー溶接入門—レーザー溶接を始める人のための基礎知識 (1) — 都賀谷紀宏, 篠崎照泰 QDT, Vol.2 4(6): 42-51, 1999
- 歯科レーザー溶接入門—レーザー溶接を始める人のための基礎知識 (2) — 都賀谷紀宏, 篠崎照泰 QDT, Vol.2 4(7): 52-63, 1999
- 歯科レーザー溶接入門—レーザー溶接を始める人のための基礎知識 (3) — 都賀谷紀宏, 篠崎照泰 QDT, Vol.2 4(11): 43-51, 1999

## ◎ 学会等の講演 ◎

- ポリエチレンの自己潤滑作用について -Self-lubrication of UHMWPE- 岡 正典, 池内 健, 中村孝志 第29回日本人工関節学会 (1999.1.28-30 倉敷市)
- Stentの血管壁支持機能に関する研究 森 浩二, 池内 健, 光藤和明 第15回日本Metallic Stent s& Grafts研究会 (1999.2.26-27 名古屋市)
- 硬い材料の組み合わせによる人工膝関節の潤滑状態解析 日下 純, 池内 健 第19回バイオトライボロジシンポジウム (1999.3.13 東京都)
- 軟組織の多点計測システムの開発 関戸 宏, 迫田秀行, 月元 亨, 池内 健, 富田 直秀 日本機械学会第11回バイオエンジニアリング講演会 (1999.3.29-31 つくば市)
- 摩擦制御を利用した推進機構 葭仲 潔, 山田光俊, 池内 健 日本機械学会第11回バイオエンジニアリング講演会 (1999.3.29-31 つくば市)
- ハイドロゲルを被覆したポリマーの潤滑特性 Lubrication Property of hydrogel coated Polymer. 石川泰成, 笠田 直, 青木 啓, 池内 健 日本機械学会第11回バイオエンジニアリング講演会 (1999.3.29-31 つくば市)
- ハイドロゲル被覆ポリマーの潤滑に及ぼすリン脂質と蛋白の影響 石川泰成, 笠田 直, 池内 健 トライボロジー会議' 99春 (1999.5.10-12 東京都)
- 光干渉法によるソフトEHL油膜の観察 (第1報) 桜 黎明, 山本和俊, 池内 健 トライボロジー会議' 99春

(1999.5.10-12 東京都)

シート交換機の開発と介護への応用 池内 健, 葭仲 潔, 森 浩二 第7回日本介護福祉学会大会 (1999.9.11-12 静岡市)

環境が炭化珪素のトライボケミカル反応に与える影響 日下 純, 池内 健 トライボロジー会議'99秋 (1999.10.27-29 高松市)

The Joint Lubrication with Water in Articular Cartilage Ken IKEUCHI and Masanori OKA 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

電子線によるUHMWPEの改質 大橋美奈子, 尾形 栄, 富田直秀, 池内 健, 筏 義人 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

UHMWPE内におきるき裂のシミュレーション (第一報: 粒界の影響) 柴田延幸, 富田直秀, 池内 健 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

ステントの構造が血管壁追従機能におよぼす影響 森 浩二, 池内 健, 光藤和明 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

ステントの曲げ特性に関する研究 森 浩二, 池内 健, 光藤和明 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

軟骨最表層の構造と潤滑 渡辺雄祐, 坂口一彦, 岡 正典, 池内 健, 速水 尚, Praveen Kumar, 中村孝志, 牛尾一康, 内田恵美子 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

多点変位計測システムによる半月の力学的機能に関する研究 関戸 宏, 迫田秀行, 長澤貴司, 寺田宏平, 富田直秀, 池内 健 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

膝関節の衝撃伝達機構に関する力学的研究 -二次元非線形有限要素解析を用いて- 福田幸久, 高井信朗, 平澤泰介, 吉野信之, 村瀬晃平, 堤 定美, 吉田宏昭, 池内 健 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

セラミックス同士を組み合わせた人工股関節のClearanceと潤滑特性 上野 勝, 馬淵清資, 池内 健 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

ハイドロゲルを被覆したPE骨頭の摩擦特性 (第2報) 石川泰成, 笹田 直, 池内 健 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 京都市)

熱感受性高分子グラフト面の水和潤滑と摩擦制御 池内 健, 河内山公宏, 宇山良公, 富田直秀, 筏 義人 第21回日本バイオマテリアル学会 (1999.11.19-20 京都市)

人工関節用セラミックスの摩耗に及ぼすトライボケミカル反応の影響について 池内 健, 日下 純, 吉田秀幸 第19回整形外科セラミック・インプラント研究会 (1999.11.27 名古屋市)

チタンのレーザー溶接パラメーター 都賀谷紀宏, 篠崎照泰, 末瀬一彦 第12回歯科チタン研究会

歯科領域におけるレーザー溶接の応用 (第一報) 溶接パラメーター 都賀谷紀宏, 篠崎照泰, 末瀬一彦 第33回日本歯科理工学会 (1999.4.2-3 川崎)

レーザー溶接パラメーターの決定に関する基礎的研究 (第2報) 各種金属間での溶接パラメーターの比較 篠崎照泰, 都賀谷紀宏, 末瀬一彦 日本歯科技工学会第21回学術大会共催学会 (1999.8.21-22 吹田)

純金属を用いたレーザー溶接に関する研究 秦野博司, 都賀谷紀宏, 有井貴彦, 村西実智浩, 宮崎照朗, 小寺邦明, 大森三生 第21回日本歯科技工学会 (1999.8.21-22 吹田)

歯科領域におけるレーザー溶接の応用 (第二報) 金属間における溶接パラメーターの比較 都賀谷紀宏, 篠崎照泰,

秦野博司, 末瀬一彦 第34回日本歯科理工学会 (1999.10.9-10 札幌)

## 生体システム制御学分野 Department of Medical Systems Control

### 【研究概要】

#### [研究概要]

当分野は胸部外科学と一体化して、末期呼吸不全患者の唯一の治療法である肺移植の臨床化に向け研究とネットワーク作りに努力している。研究では、1) 長時間保存可能な肺保存液の開発を世界の各研究施設と共同で行い、2) 再灌流障害の主役をなす活性酸素種の消去剤（ラディカルスカベンジャー）としての ADF の作用をウイルス研究所の淀井淳司教授と共同で研究している。肺移植の臨床化のために、胸部外科の大学院生を中心にトロント大学、ハノーバー医科大、ワシントン大（セントルイス）、ハーバード大学、ツルーズ大に派遣している。その他スタンフォード、延世大学、ソウル国立大などと保存液の共同研究をしている。ネットワーク作りは近畿移植ネットワーク、近畿レシピエント選定委員会に参加し整備を行っている。また、もう一つのプロジェクトとして、人工ニューロンネットワークを用いた機能的電気刺激による呼吸や咳機能の再生の研究を行っている。咳や嚥下は呼吸運動と密に関連しており、その生じるタイミングによって前後の呼吸パターンが変化する。従来型のペーシング制御技術ではこういった変化に対応することはできない。そこで我々は、咳刺激が入力されたときに呼吸パターンが咳パターンに変化する神経機構を、ニューロンネットワークモデルによって再構築し、呼吸と咳の切り替わりがどのような中枢神経機構で生じるのかを検討し、さらにこのモデルを用いたリアルタイム人工ニューロンネットワーク制御によって、従来型の横隔膜ペーシングでは対応できなかった誤嚥や上気道閉塞の合併症に対して、横隔膜ペーシングに腹筋などの筋刺激を組み合わせた多チャンネル機能的電気刺激を行い、呼吸と咳機能の再生と協調を目指している。

Three major investigation is under way in the department: (1) basic research for lung transplantation: new ET-Kyoto solution has been created for longer period of lung preservation; (2) integrated therapeutic program for advanced lung cancer: combination therapy with biochemical modulation (BCM) and the specific antigen presenting cell will possibly establish a new strategy for lung cancer; (3) the development of an innovative functional electrical stimulation (FES) controller for ventilation assist: Breathing is an integrated motor activity that involves not only diaphragm but also intercostal, abdominal and upper airway muscles. Our goal is to develop a new ambulant ventilation-assisting device using multi-channel FES controlled by an artificial neuronal network. The device is designed to restore respiratory and respiratory-related functions that have been damaged by various diseases and accidents so that the patients are able to return to their jobs.

## 【業績目録】

### ● 誌上発表 ●

#### 1) 原著論文

- Mitochondrial injuries in rat lungs preserved for 17 Hours: An Ultrastructural Study. M. Ueda, S. Kosaka, T. Hirata, T. Fukuse, Y. Suzuki, S. Hitomi, H. Wada. *Transplant Proc* 31(2): 162-172, 1999.
- Systematic analysis of N-linked sugar chains from whole tissue employing partial automation. I. Fujimoto, KK Menon, Y. Otake, F. Tanaka, H. Wada, H. Takahashi, S. Tsuji, S. Natsuka, S. Nakakita, S. Hase, K. Ikenaka. *Anal Biochem* 267(2): 336-343, 1999.
- Are respiratory responses to changes in ventilatory assist optimized? Y. Oku and S. Muro. In: *Advances in Modeling and Control of Ventilation*, eds. R. Hughson, D.A. Cunningham, and J. Duffin. Plenum, New York. 147-153, 1999.
- Ondine's curse and its inverse syndrome. Respiratory failure in autonomic vs. voluntary control. F. Yasuma, A. Okada, Y. Honda, and Y. Oku. In: *Advances in Modeling and Control of Ventilation*, eds. R. Hughson, D.A. Cunningham, and J. Duffin. Plenum, New York. 179-184, 1999.
- Acute response of the lung mechanics of the rabbit to hypoxia. H. Sakai, M. Fukui, Y. Nakano, K. Endo, T. Hirai, Y. Oku and M. Mishima. *J. Appl. Physiol.* 86: 306-312, 1999.
- A case of endobronchial endometriosis treated by subsegmentectomy. Y. Terada, F. Chen, T. Shoji, H. Itoh, H. Wada, S. Hitomi. *Chest*. 115(5): 1475-1478, 1999.
- p53 status predicts the efficacy of postoperative oral administration of tegafur for completely resected non-small cell lung cancer. F. Tanaka, K. Yanagihara, Y. Ohtake, R. Miyahara, Y. Kawano, T. Fukuse, S. Hitomi, H. Wada. *Jpn J Cancer Res.* 90(4): 432-438, 1999.
- Postoperative adjuvant chemotherapy with PVM (Cisplatin + Vindesine + Mitomycin C) and UFT (Uracil + Tegafur) in resected stage I-II NSCLC (non-small cell lung cancer): a randomized clinical trial. West Japan Study Group for lung cancer surgery (WJSG). H. Wada, R. Miyahara, F. Tanaka, S. Hitomi. *Eur J Cardiothorac Surg.* 15(4): 438-443, 1999.
- Role of saccharides on lung preservation. T. Fukuse, T. Hirata, T. Nakamura, M. Ueda, M. Kawashima, S. Hitomi, H. Wada. *Transplantation.* 68(1): 110-117, 1999.
- Influence of deflated and anaerobic conditions during cold storage on rat lungs. T. Fukuse, T. Hirata, T. Nakamura, M. Kawashima, S. Hitomi, H. Wada. *Am J Respir Crit Care Med.* 160(2): 621-627, 1999.
- Adjuvant treatment of early stage non-small-cell lung cancer. H. Wada. *Oncology (Huntingt.)*. 13(7 Suppl 3): 102-5, 1999.
- Clinical application of biodegradable rib connecting pins in thoracotomy. T. Hirata, T. Fukuse, H. Mizuno, S. Hitomi, H. Wada. *Thorac Cardiovasc Surg.* 47(3): 183-187, 1999.
- Energy metabolism and mitochondrial damage during pulmonary preservation. T. Fukuse, T. Hirata, M. Ueda, T. Nakamura, M. Kawashima, S. Hitomi, H. Wada. *Transplant Proc.* 31(5): 1937-1938, 1999.
- Skin flap storage with intracellular and extracellular solutions containing trehalose. SF. Wu, Y. Suzuki, AK.



- Kitahara, H. Wada, Y. Nishimura. *Ann Plast Surg.* 43(3): 289-294, 1999.
- Expression of proliferating cell nuclear antigen and CD44 variant isoforms in the primary and metastatic sites of nonsmall cell lung carcinoma with intrapulmonary metastases. T. Fukuse, T. Hirata, H. Naiki, S. Hitomi, H. Wada. *Cancer.* 86(7): 1174-1181, 1999.
- Mouse glutaredoxin - cDNA cloning, high level expression in *E. coli* and its possible implication in redox regulation of the DNA binding activity in transcription factor PEBP2. T. Nakamura, T. Ohno, K. Hirota, A. Nishiyama, H. Nakamura, H. Wada, J. Yodoi. *Free Radic Res.* 31(4): 357-365, 1999.
- Do mature pulmonary lobes grow after transplantation into an immature recipient? *Ann Thorac Surg.* Duebener LF. Y. Takahashi, H. Wada, SA. Tschanz, PH. Burri, HJ. Schafers. 68(4): 1165-1170, 1999.
- Prognostic significance of apoptotic index in completely resected non-small-cell lung cancer. F. Tanaka, Y. Kawano, M. Li, T. Takata, R. Miyahara, K. Yanagihara, Y. Ohtake, T. Fukuse, and H. Wada. *J. Clin. Oncol.* 17(9): 2728-2736, 1999.
- Modulation of glycinergic synaptic current kinetics by octanol in mouse hypoglossal motoneurons. Y. Oku, S. Hulsmann, W. Zhang, and D.W. Richter. *Pflugers Arch* 438: 656-664, 1999.
- Expression of thymidylate synthase in human non-small cell lung cancer. Y. Otake, F. Tanaka, K. Yanagihara, S. Hitomi, H. Okabe, M. Fukushima, H. Wada. *Jpn J Cancer Res* 90(11): 1248-1253, 1999.
- Activation of human T lymphocytes by ganglioside-containing liposomes. K. Yanagihara, E. Kato, S. Hitomi, J. Sunamoto, H. Wada. *Glycoconjugate Journal.* 16(1):59-65, 1999.

## 2) 著書および総説

- 肺移植における酸化ストレス 川島正裕, 和田洋巳 別冊・医学のあゆみ, 生体応答学の新展開, 87-92, 医師薬出版株式会社, 1999.

## ◎ 学会等の講演 ◎

### 1) 学会・研究発表

- PROTECTION OF ISCHEMIA-REPERFUSION LUNG AGAINST OXIDATIVE STRESS BY NITROGLYCERIN. M. Kawashima, T. Bando, T. Nakamura, T. Yoshimura, N. Hanaoka, T. Hirata, T. Fukuse, S. Hasegawa, S. Toyokuni, S. Hitomi, H. Wada. The 1999 ALA/ATS International Conference. (1999.4.27 San Diego, USA)
- Reconstruction of trachea with simple cryopreserved dog's aorta. N. Hanaoka, T. Bando, K. Chin, M. Kawashima, T. Yoshimura, T. Hirata, T. Fukuse, S. Hasegawa, S. Hitomi, H. Wada. The 1999 ALA/ATS International Conference. (1999.4.27 San Diego, USA)
- Intrapulmonary High-Energy Phosphate Compounds In Reperfusion Lung Injury Following Cold Ischemia In Rats. T. Hirata, T. Fukuse, T. Nakamura, K. Kawashima, C-J. Liu, M. Ueda, S. Hitomi, H. Wada. American Lung Association/American Thoracic Society International Conference. (1999.4.27 San Diego, USA)
- ADENINE NUCLEOTIDE CHANGES AND REPERFUSION INJURY IN THE NON-HEART-BEATING

- DONOR LUNGS. T. Hirata, T. Fukuse, C-J. Liu, S. Hitomi, H. Wada. The 6th Congress of the Asian Society of Transplantation (1999.9.22 Singapore)
- Apoptosis and efficacy of postoperative oral administration of UFT for p-stage I, non-small cell lung cancer. F. Tanaka, Y. Kawano, R. Miyahara, K. Yanagihara, Y. Otake, T. Fukuse, H. Wada. The 35th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO) (1999.5. Atlanta, USA)
- SURGERY FOR NON-SMALL CELL LUNG CANCER: POSTOPERATIVE SURVIVAL BASED ON THE REVISED TNM CLASSIFICATION AND ITS TIME TREND. F. Tanaka, Y. Kawano, R. Miyahara, Y. Ohtake, K. Yanagihara, T. Fukuse, H. Wada. The 13th Annual Meeting of the European Association of Cardiothoracic Surgery (1999.9. Glasgow, United Kingdom)
- EVALUATION OF TRACHEO-BRONCHIAL WALL INVASION USING TRANSBRONCHIAL ULTRASONOGRAPHY. F. Tanaka, T. Shoji, T. Yoshimura, K. Muro, H. Wada, S. Yamasaki, G. Watanabe, Y. Shimada, M. Imamura. The 13th Annual Meeting of the European Association of Cardiothoracic Surgery (1999.9. Glasgow, United Kingdom)
- Proliferating cell nuclear antigen expression in primary and metastatic sites of non-small cell lung cancer. T. Fukuse, T. Hirata, H. Naiki, S. Hitomi, H. Wada. AACR Annual Meeting (1999.4.10 Philadelphia)
- EFFECT OF OXYGEN DURING COLD ISCHEMIA ON PULMONARY FUNCTION ALA/ATS. T. Fukuse, T. Hirata, T. Nakamura, Y. Kawashima, C-J. Liu, S. Hitomi, H. Wada. International Conference. (1999.4.27 San Diego)
- Energy metabolism and reperfusion injury on warm and cold ischemia of inflated and deflated lungs. T. Fukuse, T. Hirata, C-J. Liu, S. Hitomi, H. Wada. 6th Congress of Asian Society of Transplantation (1999.9.22 Singapore)
- Effects of Novel Selectin Blocker on Warm Ischemia-Reperfusion Lung Injury. T. Yoshimura, M. Kawashima, T. Nakamura, N. Hanaoka, T. Bando, T. Hirata, T. Fukuse, S. Hasegawa, S. Hitomi, H. Wada. American Lung Association/American Thoracic Society International Conference (1999. 4. 27 San Diego)
- 肺湿虚血再灌流傷害に対するセレクトインブロッカーの有用性. 吉村誉史, 川島正裕, 中村隆之, 花岡伸治, 坂東徹, 田中文啓, 平田敏樹, 福瀬達郎, 越久仁敬, 長谷川誠紀, 人見滋樹, 和田洋巳. 第15回日本肺および心肺移植研究会 (1999.1.30 東京)
- 免疫染色標本を用いた虚血再灌流における酸化ストレスの評価. 川島正裕, 坂東徹, 中村隆之, 吉村誉史, 花岡伸治, 平田敏樹, 福瀬達郎, 長谷川誠紀, 豊國進哉, 人見滋樹, 和田洋巳. 第15回日本肺および心肺移植研究会 (1999.1.30 東京)
- 人工気胸後慢性膿胸に対する胸腔鏡下膿胸郭清術の一例. 高橋鮎子, 木葉崇史, 妻鹿成治, 坂東徹, 田中文啓, 平田敏樹, 福瀬達郎, 長谷川誠紀, 越久仁敬, 寺田泰二, 池修, 和田洋巳, 人見滋樹. 第52回日本呼吸器学会近畿地方会, 第82回日本結核病学会近畿地方会 (1999.1.9 大阪)
- 術後放射線60Gy照射後の左全摘術における気管支断端瘻への有茎性広背筋弁被覆術の経験. 妻鹿成治, 坂東徹, 田中文啓, 平田敏樹, 福瀬達郎, 長谷川誠紀, 越久仁敬, 寺田泰二, 池修, 和田洋巳, 人見滋樹. 第52回日本呼吸器学会近畿地方会, 第82回日本結核病学会近畿地方会 (1999.1.9 大阪)
- 肺小細胞肺癌・大細胞神経内分泌癌における接着分子の発現と予後. 伊禮功, 真鍋俊明, 中島正光, 松島敏俊,

- 宮原 亮, 和田洋巳 第40回日本肺癌学会総会 (1999.10.21-22 札幌)
- 肺癌の脳転移に対する放射線治療成績. -全脳照射と定位放射線照射との比較-. 永田 靖, 小久保雅樹, 芝本雄太, 平岡眞寛, 池 修, 和田洋巳 第40回日本肺癌学会総会 (1999.10.21-22 札幌)
- 肺癌脳転移に対するRadiosurgery. 長谷川誠紀, 板東 徹, 田中文啓, 平田敏樹, 福瀬達郎, 越久仁敬, 寺田泰二, 池 修, 和田洋巳 人見滋樹 第40回日本肺癌学会総会 (1999.10.21-22 札幌)
- pT1N0M0肺癌に対する区域切除例の検討. 板東 徹, 田中文啓, 平田敏樹, 福瀬達郎, 越久仁敬, 長谷川誠紀, 池修, 寺田泰二, 和田洋巳, 人見滋樹 第40回日本肺癌学会総会 (1999.10.21-22 札幌)
- 肺保存中のoptimalな肺状態とは? 福瀬達郎, 平田敏樹, 吉村誉史, 花岡伸治, 川島正裕, 劉 春江, 板東 徹, 長谷川誠紀, 越久仁敬, 和田洋巳, 人見滋樹 第34回日本移植学会総会 (1999.9.16-17 つくば)
- Chemical preconditioning による心停止ドナー肺の虚血耐性の向上. 平田敏樹, 福瀬達郎, 川島正裕, 劉 春江, 吉村誉史, 花岡伸治, 板東 徹, 越久仁敬, 長谷川誠紀, 和田洋巳, 人見滋樹 第34回日本移植学会総会 (1999.9.16-17 つくば)
- CT発見の肺腺癌. 李 美於, 伊藤春海, 板東 徹, 田中文啓, 福瀬達郎, 平田敏樹, 越久仁敬, 長谷川誠紀, 池修, 寺田泰二, 和田洋巳 第40回日本肺癌学会総会 (1999.10.21 札幌)
- 咳パターン生成の中樞神経機構のニューロンネットワーク シミュレーションによる検討. 越久仁敬, 和田洋巳 日本呼吸器学会総会 (1999.3.26 横浜)
- 小型肺癌に対する縮小手術- 肺動脈を指標とする区域切除術と成績. 和田洋巳 第90回American College of Chest Physicians日本部会 (1999.3.6 京都)
- 心臓停止後の死体肺ドナーにおける肺内エネルギー代謝. 平田敏樹, 福瀬達郎, 植田充宏, 川島正裕, 劉 春江, 和田洋巳, 人見滋樹 第16回日本呼吸器外科学会総会 (1999.5.13 東京)
- Chemical preconditioningによる心停止ドナー肺の虚血耐性の向上. 平田敏樹, 福瀬達郎, 中村隆之, 川島正裕, 植田充宏, 和田洋巳, 人見滋樹 第35回日本移植学会総会 (1999.9.17 東京)
- 非小細胞肺癌切除例におけるCD44v6発現の意義. 平田敏樹, 福瀬達郎, 板東 徹, 田中文啓, 長谷川誠紀, 寺田泰二, 池 修, 和田洋巳, 人見滋樹 第52回日本胸部外科学会 (1999.10.7 仙台)
- 肺癌切除例におけるCD44v6およびPCNAの意義. 平田敏樹, 福瀬達郎, 板東 徹, 田中文啓, 長谷川誠紀, 寺田泰二, 池 修, 和田洋巳, 人見滋樹 第36回日本癌治療学会 (1999.10.12 岐阜)
- 肺癌脳転移に対するRadiosurgery. 長谷川誠紀, 板東 徹, 田中文啓, 平田敏樹, 福瀬達郎, 越久仁敬, 寺田泰二, 池 修, 和田洋巳, 人見滋樹 第99回日本外科学会総会 (1999.3.24 福岡)
- 新生児・幼児の気管支鏡. 長谷川誠紀, 和田洋巳, 人見滋樹 第74回日本結核病学会総会 (1999.4.15 宇都宮)
- Tumor dormancyからみた非小細胞肺癌におけるadjuvant therapy. 田中文啓, 和田洋巳 第37回日本癌治療学会総会 (1999.10. 岐阜)
- アポトーシスおよびアポトーシス関連遺伝子から見た非小細胞肺癌術後の治療戦略, 特にUFT 内服を中心として. 田中文啓, 庄司 剛, 柳原一広, 平田敏樹, 福瀬達郎, 池 修, 和田洋巳 第37回日本癌治療学会総会 (1999.10. 岐阜)
- pN2症例の原発巣及び転移リンパ節における腫瘍増殖因子発現の相関と予後. 福瀬達郎, 平田敏樹, 板東 徹, 田中文啓, 長谷川誠紀, 越久仁敬, 寺田泰二, 池 修, 和田洋巳, 人見滋樹 第16回日本呼吸器外科学会総会 (1999.5.13 東京)
- 非小細胞肺癌におけるstageと予後因子. 福瀬達郎, 平田敏樹, 板東 徹, 田中文啓, 長谷川誠紀, 越久仁敬, 寺田

- 泰二, 池 修, 和田洋巳, 人見滋樹 第40回日本肺癌学会総会 (1999.10.22 札幌)
- 低濃度酸素保存による再灌流障害の軽減. 福瀬達郎, 平田敏樹, 和田洋巳, 人見滋樹 第52回日本胸部外科学会総会 (1999.10.5 仙台)
- 呼吸中枢リズム生成機構におけるグリア細胞グルタミン酸-グルタミン代謝サイクルの役割 呼吸調節研究会 (1999.10.8 東京)
- 肺癌特異的血清糖蛋白糖鎖の検索. 大竹洋介, 田中文啓, 和田洋巳, 池中的一裕 第58回日本癌学会総会 (1999.10.1 広島)
- ヒト血清糖蛋白糖鎖の解析. 大竹洋介, 藤本一郎, 田中文啓, Menon K. Krishna, 和田洋巳, 池中的一裕 第71回日本生化学会大会 (1999.10.17 横浜)
- 虚血再灌流時の酸化ストレスに対するニトログリセリンの組織保護作用. 川島正裕, 板東 徹, 中村隆之, 吉村 誉史, 花岡伸治, 平田敏樹, 福瀬達郎, 長谷川誠紀, 和田洋巳, 人見 滋樹 日本外科学会総会 (1999.3.24 博多)
- 肺温虚血再灌流傷害に対する新しいセレクトインブロッカーの有用性の検討. 吉村誉史, 川島正裕, 中村隆之, 板東 徹, 平田敏樹, 福瀬達郎, 長谷川誠紀, 人見滋樹, 和田洋巳 第99回日本外科学会総会 (1999.3.24 福岡)

## 再生医学応用研究部門

### 組織再生応用分野 Department of Tissue Regeneration

#### 【研究概要】

1. 本分野の主な研究テーマは、人工関節軟骨による新しい表面置換型人工関節の開発である。生体関節と人工関節の潤滑・負荷機構の生力学的研究結果に基づき、この15年間開発を進めてきた人工軟骨も、最も困難な課題である骨への強固な接着・固定に成功したので、臨床応用可能な人工材料になってきた。本テーマに関連する研究テーマは以下の如くである。

- (1) 人工関節軟骨への接着固定

人工関節材料として最も困難なこの問題を、我々は多孔性人工骨材料の孔内へ液状のPVAを含浸させ、ゲル硬化過程で両者を結合し、人工骨・軟骨複合材料として造ることに成功した。人工骨・軟骨複合材料を6ヶ月間家兎、犬にインプラントした結果、孔内への充分な新生骨侵入を認めた。(図1)

- (2) 人工軟骨 PVA と多孔性人工骨 TFM (チタンファイバーメッシュ) との結合強度の強化

高分子量、高濃度の粘稠なPVA原液をTFM孔内に充分含浸させることが出来ず、両者の結合強度が2.1Mpaと弱かったため、射出成形機により高温、高圧下に含浸させることにより解決しつつある。ただ高温ゲル化によりPVAゲルの物性に变化が生じたため、現在、含浸方法の改良とそれにもなう物性の变化を検索し、最適条件を求めつつある。

- (3) 犬大腿骨頭表面置換術

術後12ヶ月まで経時的に屠殺して股関節の病理学的検索を行ったところ、デバイスは大腿骨頭に固定され、臼軟骨の変化も少なく満足すべき結果を得た。これらの結果臨床応用可能な材料としてヒト用デバイスの設計・試作を行う。

- (4) 犬用人工椎間板置換術

術後6ヶ月まで屠殺し病理学的検索を行ったところ、デバイスは椎体に強固に固定され、旧来のデバイスで認められた不安定性による骨棘形式も目立たなかった。

- (5) ウサギ人工半月板置換術

PVAゲルにより作製した人工半月板でウサギの膝手術を行っている。

2. 人工関節材料の摩擦・摩耗の研究

現行の人工関節の最大の問題であるPE摩耗を減少させるため、PEの耐摩耗性の改良を行っている。

3. 骨粗鬆症と大腿骨頭部骨折の生力学的解析

大腿骨頭部骨折の人工骨頭置換術で摘出された大腿骨頭を用いて、大腿骨頭部骨折の骨折型を分類し、骨頭海綿骨の物性並びに骨梁の形態学的相違と骨折型との関係を明らかにしつつある。

4. 関節の修復に関する研究

培養軟骨細胞による軟骨欠損部の実験的研究を行い、軟骨細胞の形質維持に関する研究を行っている。

5. 関節軟骨最表層の構造と潤滑機能の研究

AFMにより関節軟骨最表層構造を明らかにし、Hyaluronidase等の酵素処理による構造の変化と同時に測

定する摩擦係数の変化との関連を追及しつつある。

#### 6. 骨芽細胞の分化・増殖機構の解析

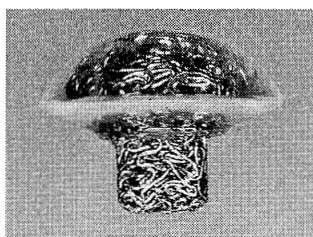
骨芽細胞から骨肉腫に至る過程を分子レベルで明らかにすることは、骨芽細胞への系列にある間葉系細胞の分化・増殖に関する機構を明らかにすることにつながる。そこで骨肉腫の発生に重要な役割を果たしていると考えられて p53 遺伝子あるいは網膜芽細胞腫遺伝子のノックアウトマウスより骨芽細胞様細胞系を樹立した。これらのいわば前癌状態の細胞から完全な形質転換細胞が形成される過程での遺伝子変化を解析することで骨芽細胞の分化・増殖を制御する因子を検索している。

#### 7. 軟骨細胞の分化・増殖機構の解析

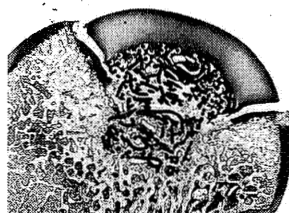
p53 遺伝子ノックアウトマウスの肋軟骨より軟骨細胞を単離し、複数のクローンを樹立した。軟骨細胞マーカーの解析では、タイプ II コラーゲン陽性の細胞とタイプ X コラーゲンが陽性のクローンが及び両者とも陽性のクローンといくつかの異なる系が得られた。これらの細胞で他の遺伝子発現を解析するとともに、両者の間での遺伝子発現を比較して、石灰化機構に関連した遺伝子の単離をめざしている。

#### 8. 脂肪細胞の分化・増殖機構の解析

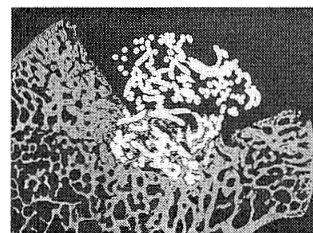
CHOP 遺伝子は脂肪細胞の分化を制御する因子の一つであり、その発現異常は脂肪組織由来の悪性腫瘍である粘液型脂肪肉腫の発生に関与している。そこで変異 CHOP 遺伝子を用いた形質転換実験により、CHOP 遺伝子の下流に存在して脂肪細胞の分化・増殖を制御する因子を検索している。



人工骨軟骨複合材料の  
犬用デバイス



犬大腿骨頭術後12ヶ月  
Giemsa染色



犬頭骨CMR

図：犬大腿骨頭部分置換術

#### Abstract

Main objective of our research field is to develop artificial osteo-chondral composite material with which to replace damaged joint surfaces

1. Since 15 years, we have developed the material composed of PVA Hydrogel and Titanium Fiber Mesh (TFM). As the most important prerequisite for artificial cartilage, that is, to attach the material to underlying bones firmly and quickly has been solved by new bone ingrowth into the pores of TFM, this material becomes a very promising joint material.

2. For clinical application to repair aseptic necrosis of the femoral head, we have implanted them to femoral head of beagle dogs (24 dogs). As this composite material is good candidate for artificial intervertebral disc, we have also implanted them into canine spine. The histological findings of the specimen obtained 12 months after the operation revealed the firm attachment of the device to the femoral head and almost intact articular surfaces of the acetabulum. These results encourage the clinical use of this device for

the treatment of aseptic necrosis of the femoral head.

3. To make clear fracture mechanisms of femoral neck fractures, we have examined various mechanical properties of cancellous bones taken from 55 femoral heads, removed for prosthetic replacement. By performing various mechanical tests of primary compressive trabeculae of the femoral head, mechanical and morphological characteristics of osteoporotic cancellous bone have been elucidated.

4. Upper most superficial layer of articular cartilage in relation to joint lubrication are observed using AFM. Influences of enzyme treatment like Hyaluronidase on the structure of articular cartilage and also on friction are examined. The results showed that protein rich membranous structures cover the joint surface and play important role in joint lubrication.

5. Differentiation and proliferation of osteoblastic cells..

Dissection of the molecular process from osteoblasts to osteosarcoma cells will provide information concerning the differentiation and proliferation of mesenchymal cells on osteoblastic lineage. We have established cells with osteoblastic phenotype from mice without the p53 gene or retinoblastoma gene, which have principle roles in the development of osteosarcoma. Using these precancerous cells, we have tried to isolate the factors, which regulate the differentiation and proliferation of osteoblasts.

6. Differentiation and proliferation of chondrocytic cells.

Chondrocytes were isolated from ribs of p53 (-/-) mice, and several clones with chondrocytic characteristics such as type II and X collagen gene expression were established. We have tried to isolate genes which are involved in the calcification by comparing the gene expression profile between these clones.

7. Differentiation and proliferation of adipocytic cells.

The CHOP gene is one of key factors to regulate the differentiation of adipocytic cells, and genetic alterations of this gene is involved in the development of myxoid liposarcomas which are derived from adipocytic tissue. We have analyzed the effects of abnormal CHOP gene by transformation experiments to investigate the down stream factors which may regulate the normal process of differentiation and proliferation of adipocytic cells.

## 【業績目録】

### ● 誌上発表 ●

#### 1) 原著論文

人工椎間板の開発. 岡正典, 由良茂人, 玄丞然, 中村孝志 脊椎・脊椎ジャーナル 12:429-434, 1999.

Changes of Joint surfaces opposing against various biomaterials. M. Oka, K. Ushio, S. Yura, H. Fujita, T. Nakamura. Bioceramics 12:91-94, 1999.

Development of artificial intervertebral disc using PVA-hydrogels. S. Yura, M. Oka, K. Ushio, H. Fujita, T. Nakamura. SIROT99 371-376, 1999.

The development of artificial osteochondral composite material. M. Oka, S. Yura, J. Toguchida. Advances in Science and Technology 28:385-397, 1999.

- ポリビニールアルコールハイドロゲルの生体内安定性評価. 牛尾一康, 岡正典, 他 5 名 日本臨床バイオメカニクス学会誌 20:315-318, 1999.
- 生体関節と人工関節の摩擦特性について. 林力一, 岡正典, 他 8 名 日本臨床バイオメカニクス学会誌 20:307-314, 1999.
- 犬骨頭表面置換術におけるstress-shieldingの研究. 浦川隆史, 岡正典, 他 5 名 日本臨床バイオメカニクス学会誌 20:249-253, 1999.
- 犬用人工椎間板の力学的特性評価. 孕石佳久, 岡正典, 他 5 名 日本臨床バイオメカニクス学科誌 20:7-11, 1999.
- 人工椎間板の開発. 岡正典 脊椎・脊椎ジャーナル 12:40-42, 1999.
- Femoral bone resorption observed in canine THA using bioactive bone cement. H. Fujita, K. Ido, W.M. Mousa, K. Ushio, H. Iida, K. Kawanabe, S. Yura, M. Oka, T. Nakamura. Bioceramics 12:517-520, 1999.
- Wear resistance of lightly cross-linked UHMWPE crystallized from the melt under uniaxial compression. M. Ohta, S.H. Hyon, M. Oka, S. Tsutsumi. Wear 225-229:312-318, 1999.
- Anisotropy of osteoporotic cancellous bone. H. Sugita, M. Oka, J. Toguchida, T. Nakamura, T. Ueo, T. Hayami. Bone 24:513-516, 1999.
- 配向結晶化UHMWPEの耐摩耗性と力学的特性. 玄丞然, 太田信, 堤定美, 岡正典 日本臨床バイオメカニクス学会誌 20:293-296, 1999.
- 骨粗鬆症海綿骨の骨梁構造変化に関する研究 (第2報). 岩崎祐喜, 岡正典, 速水尚, 坂口一彦, 中村孝志 日本臨床バイオメカニクス学会誌 20:225-229, 1999.
- テレメーターを用いた生体内力学環境の測定 (第1報). 原田恭治, 富田直秀, 池内健, 岡正典, 木下徹, 青山栄一 日本臨床バイオメカニクス学会誌 20:63-65, 1999.
- 大腿骨頭海綿骨における亀裂進展挙動. 速水尚, 岡正典, 中村孝志, 江坂拓南, 坂口一彦 日本臨床バイオメカニクス学会誌 20:203-207, 1999.
- Development of artificial articular cartilage. M. Oka, K. Ushio, P. Kumar, K. Ikeuchi, S. H. Hyon, T. Nakamura, H. Fujita. Eng. In Medicine 214 H: 59-68, 2000.
- Dynamic modulus measurement of a safely cross-linked UHMWPE crystallized under uniaxial compression. M. Ohta, S. H. Hyon, K. B. Kang, S. Tsutsumi, M. Oka, S. Murakami, S. Kohjita Russ. J. of Biomech. 3: 34-48, 1999.
- Evaluation of bioactive bone cement in canine total hip arthroplasty. H. Fujita, K. Ido, Y. Matsuda, H. Iida, M. Oka, Y. Kitamura, T. Nakamura. J. Biomed. Mat. Res. 49: 273-288, 2000.
- Three-dimensional virtual imaging of facial skeleton and dental morphologic condition for treatment planning in orthognathic surgery. H. Okumura, L. Chen, S. Tsutsumi, M. Oka. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 116(6): 126-131, 1999.
- CAD/CAM fabrication of occlusal splints for orthognathic surgery. H. Okumura, L. Chen, Y. Yoloee, S. Tsutsumi, M. Oka. Journal of Clinical Orthodontics 34(4): 231-235, 1999.
- Characteristics of genomic breakpoints in TLS-CHOP translocations in liposarcomas suggest the involvement of Translin and topoisomerase II in the process of translocation. H. Kanoe, T. Nakayama, T. Hosaka, H. Murakami, H. Yamamoto, Y. Nakashima, T. Tsuboyama, T. Nakamura, D. Ron, M.S.Sasaki, J. Toguchida. Oncogene 18: 721-729, 1999.



- Anisotropy of osteoporotic cancellous bone. H. Sugita, M. Oka, J. Toguchida, T. Nakamura, T. Ueo, T. Hayami. Bone 24: 513-516, 1999.
- Association of the human NPPS gene with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL). I. Nakamura, S. Ikegawa, A. Okawa, S. Okuda, Y. Koshizuka, H. Kawaguchi, K. Nakamura, T. Koyma, S. Goto, J. Toguchida, M. Matsushita, T. Ochi, K. Takaoka, Y. Nakamura. Hum. Genet., 104:492-497, 1999.
- p53遺伝子の遺伝性変異の遺伝子型と表現型. 戸口田淳也 医学のあゆみ 190:670-676, 1999.
- 骨軟部腫瘍に対する術中照射療法における髄内釘の応用. 戸口田淳也, 坪山直生, 笠原勝幸, 中村孝志, 琴浦良彦. 中部整災誌42: 549-550, 1999.
- 骨腫瘍における遺伝子解析の意義と問題点. 戸口田淳也, 中山富貴, 村上弘病理と臨床 17:1029-1034, 1999.
- 骨肉腫の遺伝子異常. 戸口田淳也 整・災外42:1196-1197, 1999.
- 遠隔転移を生じた骨肉腫の治療成績. 坪山直生, 戸口田淳也, 笠原勝幸, 中村孝志. 中部整災誌 42:801-802, 1999.

## 2) 著書および総説

- 人工骨と人工軟骨. 岡 正典 21世紀への人工臓器 岡田昌義, 安田康秀編, 211-220, 1998.
- 人工骨軟骨複合材料の開発. 岡 正典 日関外誌 18:3-12, 1999.
- 人工関節の現況と将来. 岡 正典 臨床と研究 730-736, 1999.

## ● 学会等の講演 ●

- アルカリ加熱処理した多孔性チタンインプラントの骨結合能. 西口 滋, 中村孝志, 加藤弘文, 藤田 裕, 岡 正典 第14回日本整形外科学会 (1999.10.7 奈良)
- 大腿骨頸部骨折と骨頭海綿骨の異方性. 岡 正典, 速水 尚, 杉田 光, 光成淳史, 中村孝志, 上尾豊二 第14回日本整形外科学会 (1999.10.7 奈良)
- 関節軟骨最表層の構造と潤滑機能. 岡 正典, 戸口田淳也, 内田恵美子, 玄丞然, 中村孝志 第14回日本整形外科学会 (1999.10.7 奈良)
- AWガラスセラミックと使用した新しい髄腔プラグの開発. 藤田 裕, 飯田寛和, 井戸一博, 松田康孝, 岡 正典, 中村孝志 第14回日本整形外科学会 (1999.10.7 奈良)
- 犬大腿骨頭の部分的表面置換術 (第2報). 牛尾一康, 岡 正典, 玄丞然, 藤田 裕, 由良茂人, 戸口田淳也, 中村孝志 第14回日本整形外科学会 (1999.10.7 奈良)
- 人工椎間板の開発に関する研究 (第5報). 由良茂人, 岡 正典, 孕石佳久, 牛尾一康, 中村孝志 第14回日本整形外科学会 (1999.10.7 奈良)
- Femoral bone resorption observed in canine THA using bioactive bone cement. H. Fujita, K. Ido, W. Mousa, K. Ushio, H. Iida, K. Kawanabe, S. Yura, M. Oka, T. Nakamura. 12th Inter Symposium on Ceramics in Medicine (1999.10.8 NARA)
- Changes of joint surfaces opposing against various biomaterials. M.Oka, K. Ushio, S. Yura, H. Fujita, T. Nakamura. 12th Inter Symposium on Ceramics in Medicine (1999.10.8 NARA)
- ポリエチレンの自己潤滑作用について. 岡 正典, 戸口田淳也, 中村孝志 第29回日本人工関節学会 (1999.1.28)

倉敷)

人工股関節UHMWPEカップの新しい成型法. 玄丞然, 太田 信, 姜有峯, 堤定美, 岡 正典 第29回日本人工  
関節学会 (1999.1.28 倉敷)

関節軟骨最表層の構造. 林 力一, 岡 正典, 池内 健, 速水 尚, 内田恵美子, 中村孝志, 牛尾一康 第19回  
バイオトライボロジーシンポジウム (1999.3.13 東京)

Development of artificial intervertebral disc. S. Yura, M. Oka, K. Ushio, T. Nakamura. SIROT (1999.4.15.  
Sydney)

Partial surface replacement arthroplasty for aseptic necrosis of femoral head. K. Ushio, M. Oka, S. Yura, T.  
Nakamura. SICOT (1999.4.18 Sydney)

大腿骨頸部骨折の生力学的研究 (第1報) - 応力伝播挙動のFEM衝撃解析 - 二階堂崇之, 坂口一彦, 岡 正典,  
P. Kumar, 速水 尚, 飯田寛和, 中村孝志 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6.7 京都)

大腿骨頸部骨折の生力学的研究 (第2報) - 海綿骨のせん断破壊特性 - 光成淳史, 坂口一彦, 岡 正典, 速水  
尚, 中村孝志 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6.7 京都)

犬大腿骨頭部分的表面置換術に於けるStress Shielding. 牛尾一康, 岡 正典, 玄丞然, 浦川隆史, 由良茂人, 速  
水 尚, 中村孝志 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6.7 京都)

PVA-Hの力学的特性に関する研究. 森川将名, 坂口一彦, 岡 正典, 玄丞然, 速水 尚, 牛尾一康, 中村孝志  
第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6.7 京都)

圧縮配向結晶化による超高分子量ポリエチレン結晶の残留応力測定. 太田 信, 姜有峯, 玄丞然, 堤定美, 岡  
正典, 田邊裕貴, 三好良夫 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6.7 京都)

Bioactive 骨セメント使用における Stress Shielding の研究. 浦川隆史, 坂口一彦, 岡 正典, 速水 尚, 藤田  
裕, 牛尾一康, 中村孝志 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6.7 京都)

軟骨最表層の構造と潤滑. 渡辺雄祐, 坂口一彦, 岡 正典, 池内 健, P. Kumar, 速水 尚, 牛尾一康, 内田  
恵美子, 中村孝志 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6.7 京都)

犬腰椎に刺入したチタン合金製スクリューに対するアルカリ加熱処理の効果. 西口 滋, 藤林俊介, 岡 正典,  
金鉉敏, 小久保正, 中村孝志 第21回日本バイオマテリアル学会 (1999.11.19 京都)

整形外科における生体材料の進歩. 岡 正典 第11回中之島リウマチセミナー (1999.12.19 大阪)

Attachment of soft joint material to underlying bone. M. Oka, K. Ushio, T. Nakamura, S. H. Hyon. SIROT  
(1999.4.15. Sydney)

Porous AW glass ceramic as a femoral intramedullary plug. H. Fujita, K. Ido, Y. Matsuda, H. Iida, M. Oka,  
T. Nakamura. SIROT (1999.4.15. Sydney)

粘液型脂肪肉腫のTLS-CHOP融合遺伝子形成におけるトランスリンの関与. 保坂泰介, 鹿江 寛, 村上 弘, 山本  
博史, 仲俣岳晴, 中村孝志, 戸口田淳也第58回日本癌学会総会 (1999.9.30 広島)

ヒト骨肉腫におけるSV40-like sequenceの検索. 山本博史, 村上 弘, 保坂泰介, 仲俣岳晴, 中村孝志, 戸口田淳  
也 第58回日本癌学会総会 (1999.9.30 広島)

骨肉腫の多様性の分子機構. 戸口田淳也, 中山富貴, 村上 弘, 山本博史, 中村孝志 第58回日本癌学会総会  
(1999.9.29 広島)

マウス骨由来細胞の悪性化における遺伝子発現の変化. 村上 弘, 仲俣岳晴, 保坂泰介, 山本博史, 中山富貴, 坪  
山直生, 中村孝志, 戸口田淳也 第58回日本癌学会総会 (1999.9.29 広島)

- Adipogenic tumor における TLS-CHOP 標的遺伝子 DLO54 の発現. 堂本英治, 黒田雅彦, 戸口田淳也, 保坂泰介, 浦野文彦, 向井 清 第58回日本癌学会総会 (1999.9.29 広島)
- 軟骨肉腫における多発性外骨腫 (EXT) 遺伝子の変異解析. 戸口田淳也, 仲俣岳晴, 田中美佳, 坪山直生, 岡 正典, 中村孝志 第32回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (1999.7.16. 岐阜)
- p53 遺伝子欠損骨芽細胞様細胞株 (MMC2) からのマウス骨肉腫細胞株の樹立. 村上 弘, 中山富貴, 保坂泰介, 山本博史, 仲俣岳晴, 坪山直生, 中村孝志, 戸口田淳也 第32回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (1999.7.16 岐阜)
- キメラマウスを用いた Rb(-/-)骨芽細胞様細胞株の樹立. 山本博史, 村上 弘, 保坂泰介, 仲俣岳晴, 中山富貴, 坪山直生, 中村孝志, 日下部守昭, 戸口田淳也 第32回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (1999.7.16 岐阜)
- 原発性脊椎悪性腫瘍の手術成績. 松下 睦, 多田弘史, 坪山直生, 中村孝志, 戸口田淳也, 藤林俊介, 四方実彦 (第32回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会1999.7.17 岐阜)
- TLS-CHOP 融合遺伝子形成における Translin の関与. 保坂泰介, 鹿江 寛, 村上 弘, 山本博史, 仲俣岳晴, 坪山直生, 中村孝志, 戸口田淳也 第32回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (1999.7.17 岐阜)
- 悪性線維性組織球腫の治療成績. 坪山直生, 戸口田淳也, 笠原勝幸, 中嶋安彬, 中村孝志 第32回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会 (1999.7.17 岐阜)
- 盲腸皮膚瘻によって排便障害に対処した仙骨脊索腫の1例. 大槻文悟, 戸口田淳也, 坪山直生, 松下 睦, 多田弘史, 西松秀和, 中村孝志, 小野寺久 第348回整形外科集談会京阪神地方会 (1999.3.20 大阪)
- マウス骨芽細胞の悪性化におけるシスプラチン耐性の変化. 村上弘, 仲俣岳晴, 保坂泰介, 山本博史, 中山富貴, 坪山直生, 中村孝志, 岡 正典, 戸口田淳也 第14回日本整形外科学会基礎学術集会 (1999.10.7 奈良)
- 四肢原発平滑筋肉腫の治療成績. 布留守敏, 戸口田淳也, 坪山直生, 中村孝志 第93回中部整形災害外科学会 (1999.10.27 金沢)
- 恥骨発生高分化型骨肉腫の治療成績. 吹上謙一, 戸口田淳也, 坪山直生, 中村孝志 第93回中部整形災害外科学会 (1999.10.27 金沢)
- 滑膜肉腫の治療成績. 坪山直生, 戸口田淳也, 笠原勝幸, 中村孝志 第93回中部整形災害外科学会 (1999.10.28 金沢)

## 器官形成応用分野 Department of Organ Reconstruction

### 【研究概要】

現在の研究室スタッフは、井上一知教授以下、宮本正章助教授、顧 元駿、長田奈津紀、堀 洋 研究員、森元良彦、王 文敬 大学院生、佐竹 晃、奇 梅日更研究生、野澤由香研究補助支援員である。また腫瘍外科（第一外科）よりの大学院生（山崎 透、木下直子、崔万興、許宝友）、研究生（川上義行）を受け入れている。さらにインドよりの学術振興会外国人研究員としてA.N. Balamurugann氏を受け入れている。さらに2名の大学院生、1名

の研究員及び1名の研究生の新たな参加が予定されており、今後さらに精力的な研究が行われることが期待される。

研究室の主研究領域は、膵島移植である。膵島移植はI型糖尿病に対する根治的治療法として、近年欧米において急速に症例数の増加が報告されている。しかし、本邦においては同種膵島移植の臨床応用は未だ行われておらず、現在我々の研究室では学会をリードしつつ、臨床応用をめざして準備を進め、具体的には、現在まで、1) 膵島細胞分離法、2) Islet bank 確立のための膵島凍結保存法を開発した。1) の膵島分離は量的および質的な問題を克服する必要がある、その評価を行うためにイヌ、ブタ膵臓を用いた種々の検討を行ってきた。これらの成果により京都大学医学部医の倫理委員会で、心臓死ドナーよりの臨床膵島移植実施に付き承認を受けた。

実験的研究テーマとして、これまでに、異種（ブタ）膵島分離法、バイオ人工膵移植、膵β細胞株（MIN6等）に関する検討、移植免疫に関する検討、移植部位に関する検討、さらに抗癌剤封入温度感作性ゾルーゲル相転移型高分子化合物による新しい癌局所療法の開発等を行ってきた。

異種（ブタ）膵島分離法：臨床膵島移植において問題となるドナー不足の解決のための方法の一つとして、異種動物の利用の可能性が示唆されており、ブタがその目的に最も適していると考えられている。しかしブタ膵島分離は、ヒト膵島分離と較べてより困難であるとされてきた。我々は酵素液組成、酵素消化段階、精製分離段階に工夫を加えることにより、大量かつ高純度のブタ膵島を分離することに成功した。

バイオ人工膵移植：現在、臨床同種膵島移植において用いられている免疫抑制剤には様々な問題があり、これを解決するための方法の一つとして、免疫隔離膜を有するバイオ人工膵を用いた移植が考えられる。我々はこれまでに拡散チャンバー型人工膵として、MRPT、MRPB、三層型マイクロビーズを用いて検討を行ってきた。ラット分離膵島、ブタ分離膵島、膵β細胞株(MIN6)を封入した人工膵を用いた検討において、同種移植モデル、異種移植モデルいずれにおいても、ホストの免疫拒絶反応に対して良好な免疫隔離能を有することが示された。

膵β細胞株に関する検討：MIN6細胞は宮崎らにより樹立されたマウス膵β細胞株で、生理的なグルコース濃度変化に対する良好なインスリン分泌能を有している。必要に応じて培養増殖することが可能で、バイオ人工膵のバイオリクターとしての利用が考えられる。これまでにヒトインスリン遺伝子導入によるヒトインスリン分泌が確認されているが今後、免疫拒絶に関わる分子の遺伝子導入に関する検討を行う予定である。

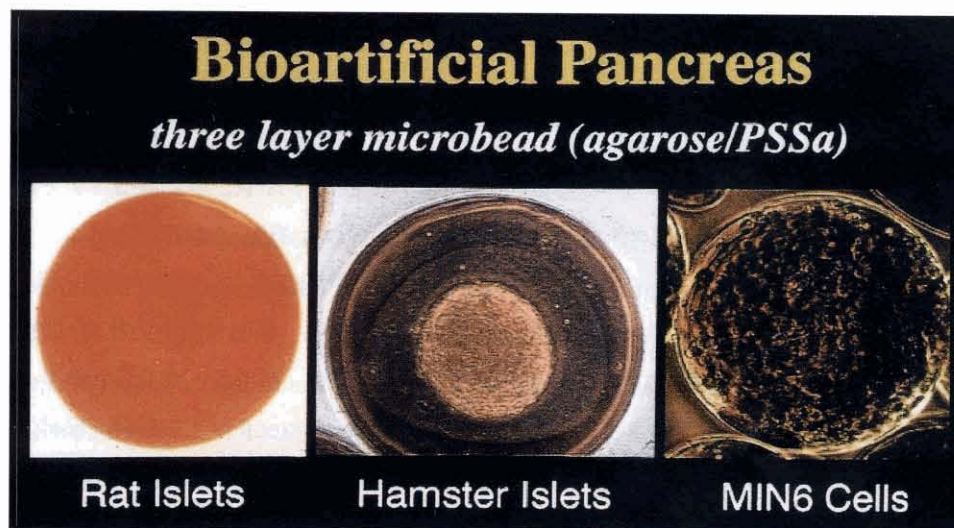
移植免疫に関する検討：異種移植における超急性期免疫拒絶反応には、補体の活性化が関与しているとされている。我々は高分子化合物を用いた体外循環回路による補体活性制御モデルを確立し、これまでにモルモット異種心移植モデルにおいてグラフト生着期間の著しい延長を得ることに成功した。また移植心の詳細な検討により、超急性期拒絶反応における補体活性化機序の解明を行った。現在バイオ人工膵に用いる、新たな補体活性抑制物質に関する検討を進めている。

移植部位に関する検討：臨床膵島移植において、現在行われている門脈内移植には移植後早期の膵島障害など、様々な問題が指摘されておりその解決方法の一つとして新たな移植部位の確立に関する検討が必要である。我々は移植部位に新生血管を誘導し、血流を良好に保つことにより、腹腔内、皮下組織内、筋肉内へのラット膵島同系移植において長期間にわたる血糖値の正常化を得ることに成功した。皮下、筋肉内移植には低侵襲性、グラフト回収を容易に行うことができるなどの大きな利点があると考えられている。今後、腹腔内と共にバイオ人工膵の移植部位として利用することが可能となる可能性があると考えられ、現在検討を進めている。また移植部位においてマトリックスを用いた三次元構造を構築し、同部位へ分離膵島及びバイオ人工膵を移植する試みを行ってきた。これまでにラット分離膵島同系移植モデルにおいて、長期間にわたる血糖値の正常化が得られた。今後ラット同種移植モデルにおいて検討を行う予定である。

抗癌剤封入温度感作性ゾルーゲル相転移型高分子化合物による新しい癌局所療法の開発：N-イソプロピルアク

リルアミド (NIPAAm) に対するモノマーの種類, 仕込み組成を変化させることにより, 種々の薬物 (5-FU, シスプラチン) の時間的・空間的制御が可能となった. そして *in vivo* においてもヒト肝癌モデル (無胸腺マウス) に対して有効性を示し (著しい生存率の延長, 腫瘍径縮小効果), 現在臨床応用に向けて研究を継続している.

以上, 現在進められている研究テーマについて概略を示したが, 我々は将来的に異種膵島, 及び膵  $\beta$  細胞株を用いたバイオ人工膵移植による糖尿病治療をめざしており, 引き続き多角的に今後の研究を進めていく考えである.



#### Outline of research

Major field of our research is pancreatic islet transplantation. Pancreatic islet transplantation could be alternative of curative therapy to the patient with type I diabetes mellitus. To date, clinical application of islet allo-transplantation has not carried out in Japan. We are going to establish the system prepared for clinical islet allo-transplantation. The system involves two specialized techniques that have been considered essential for successful transplantation. One is islet isolation technique and other is cryopreservation technique of isolated islet for islet bank.

One of the crucial problems on clinical islet allo-transplantation is the control of quantity and quality of isolated islets during isolation processes that may affect the function of grafted islets. We have previously reported the method for islet isolation with excellent results on large-scale animal model. Other technique we have explored for clinical application of islet allo-transplantation regards cryopreservation of isolated islet. Recently, we have developed the method for cryopreservation of isolated islet that is important for the establishment of islet banking system. Establishment of islet banking system would contribute to solve the serious problems of shortage of donor islet. For the complete evaluation of our method, further studies using human pancreas are needed at our institution. We have applied the research protocol using human pancreas to the institutional committee board of Kyoto University. After the approval of the research protocol using human pancreas, we will immediately carry the study on for clinical application.

We have various themes on experimental islet transplantation such as isolation of xeno-porcine islet, bioartificial pancreas, pancreatic  $\beta$  cell line, mechanisms regarding immune-responses on xeno-transplantation and site for islet transplantation. We have supposed the strategy to establish the method of

pancreatic islet transplantation employing bioartificial pancreas encapsulating xeno-porcine islets and or pancreatic  $\beta$  cells as a curative therapy for the patient with type I diabetes mellitus.

We would like to conduct our research on pancreatic islet transplantation with multiple view points in future.

## 【業績目録】

### ◎ 誌上発表 ◎

#### 1) 原著論文

- Development of Fluorescein Diacetate and Ethidium Bromide (FDAEB) Assay for Isolation Islets in Quality Assessment of Islets. M. Miyamoto, Y. Gu, Y. Kawakami, Y. Morimoto, A.N. Balamurugan, K. Inoue. Cell Transplantation (in press)
- Effectiveness of Acidic Oxidative Potential Water in Preventing Bacterial in Islet Transplantation. M. Miyamoto, K. Inoue, Y. Gu, S. Hoki, S. Haji, and H. Ohyanagi. Cell Transplantation 8 : 405-411, 1999
- Novel Method for Isolation of Adult Porcine Pancreas Islet with Two-Stage Digestion Procedure. W. Cui, Y. Gu, M. Miyamoto, Y. Kawakami, M. Imamura, H. Iwata, and K. Inoue. Cell Transplantation 8 : 391-398, 1999
- Detection of multiple hepatic micrometastases in pancreatic adenocarcinoma with a solitary liver metastasis by direct sequencing of the K-ras gene : A case report. H. Suwa, R. Hosotani, T. Okino, K. Monden, S. Arai, K. Inoue, M. Kogire, G. Ohshino, M. Fukumoto, M. Imamura. Surgery 124 : 113-116, 1999
- Effect of "Acidic Oxidative Potential Water" on Microbial Contamination Harvesting Porcine Pancreas for Islet Xenotransplantation. M. Miyamoto, K. Inoue, H. Hori, Y. Gu, W.X. Cui and H. Ohyanagi. Transplant Proc 30 : 3431-3432, 1999
- Effectiveness of modified two layer preservation method (PEC/Kyotosolution) in Islet Isolation of breeder pigs. M. Miyamoto, Y. Gu, W.X. Cui, Y. Kawakami, N. Nagata, A.N. Balamirugan, Y. Morimoto, A. Satake, Y. Suzuki, Y. Tanioka, Y. Kuroda, K. Inoue. Transplant Proc (in press)
- Effect of Neovascularization-inducing Bioartificial Pancreas on Survival of Syngeneic Islet Graft. Y.J. Gu, M. Miyamoto, W.X. Cui, B.Y. Xu, Y. Kawakami, T. Yamasaki, H. Setoyama, N. Kinoshita, H. Iwata, Y. Ikada, M. Imamura, K. Inoue. Transplant Proc (in press)
- DEVELOPMENT OF A NEW BIO-ARTIFICIAL PANCREAS POSSESSING ANGIOGENESIS-INDUCING FUNCTION. Y.J. Gu, M. Miyamoto, W.X. Cui, B.Y. Xu, Y. Kawakami, T. Yamasaki, H. Setoyama, N. Nagata, A.N. Balamurugan, Y. Morimoto, A. Satake, H. Iwata, M. Imamura, M. Nozawa, K. Inoue. Transplant Proc (in press)

#### 2) 著書および総説等

- 臓器における再生医学. 宮本正章, 川上義行, 顧元駿, 堀洋, 天形太郎, 長田奈津紀, 岩田博夫, 井上一知  
Surgery Frontier, 6, 62-65, 1999



- 膵島分離と臨床膵島移植 Islet isolation and clinical islet transplantation. 宮本正章, 顧元駿, 川上義行, 堀洋, 天形太郎, 長田奈津紀, 井上一知 組織培養工学, 25 266-270, 1999
- 膵島分離における膵保存の重要性. 宮本正章, 顧元駿, 川上義行, 堀洋, 天形太郎, 長田奈津紀, 森元良彦, A.N. Balamurugan, 佐竹晃, 井上一知 低温医学 25巻, 3号, 118-122, 1999
- 再生医学と臨床応用への展望 オーバービュー. 井上一知 現代医療 31巻, 12号, 92-100 1999
- 膵島移植と膵再生. 宮本正章, 顧元駿, 川上義行, 堀洋, 天形太郎, 森元良彦, 佐竹晃, 井上一知 現代医療 31巻, 12号, 135-140 1999
- 胃切除と骨粗鬆症. 宮本正章, 森元良彦, 井上一知 Clinical Calcium 9, 1279-1283, 1999
- 膵島分離とバイオ人工膵. 川上義行, 宮本正章, 顧元駿, 堀洋, 天形太郎, 岩田博夫, 佐竹晃, 井上一知 組織培養工学 25巻 7号 271-274 1999
- 膵島細胞凍結保存における管理法ー管理ソフト “Cryo Manager” 利用の試みー. 吉村滋弘, 田中常雄, 宮本正章, 井上一知 組織培養工学 25巻 7号 297-283, 1999
- 救急患者の薬物療法 3.代謝・内分泌系 高血糖・低血糖. 土井隆一郎, 井上一知, 今村正之
- 特集: 薬物マニュアル 高血糖・低血糖. 土井隆一郎, 井上一知, 今村正之 臨床外科
- 膵島移植の現状と展望ー特集によせてー. 井上一知 組織培養工学 25巻 7号 (特集編輯) 1999
- BIO INDUSTRY 1月号・2月号 特集: 「21世紀における再生医療の役割」. 井上一知
- 再生医療に果たす役割とは. 井上一知 BIO INDUSTRY 17巻, 1月号, 5-8, 2000
- 膵島移植の現状と将来展望. 井上一知, 宮本正章, 顧元駿 膵臓 (日本膵臓学会誌) Vol.14 No.6, 437-454
- 臨床応用可能なバイオ人工膵の開発. 井上一知, 宮本正章, 顧元駿, 川上義行 第11回再生医工学委員会 (「再生医工学」研究推進委員会-13回) 資料集 (1999.6.14.15 大阪)
- 糖尿病の移植医療ー膵島・膵移植を中心に. 宮本正章, 井上一知 南江堂 内科ブラックティカルシリーズ 6, 229-232, 1999
- 増殖因子. 宮本正章, 井上一知 医学書院 外科分子病態学 55-60, 1999

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

- 分離膵島 Quality Assessment における Fluorescein Diacetate and Ethidium Bromide (FDAEB) 蛍光生体標識の有用性. 宮本正章, 井上一知, 顧元駿, 森元良彦, 王 文敬, 山崎 透, 瀬戸山 博, 川上義行, 崔 万興, 許 宝友, 木下直子 第7回細胞療法研究会 (1999.4.23 東京)
- 臨床応用可能なバイオ人工膵の開発. 井上一知 第11回再生医工学委員会 (1999.6.14. 大阪)
- 重症糖尿病に対するバイオ人工膵による膵島皮下移植法の確立. 宮本正章, 川上義行, 岩田博夫, 村上庸能, 顧元駿, 堀洋, 長田奈津紀, 天形太郎, A. Baramurugan, 森元良彦, 王 文敬, 佐竹 晃, 井上一知 第11回再生医工学委員会 (1999.6.14. 大阪)
- 血管新生の誘導を伴う人工膵を用いた同種膵島移植. 顧元駿, 田畑泰彦, 宮本正章, 川上義人, 今村正之, 井上一知 第53回日本消化器外科学会総会 (1999.7.15.16. 名古屋)
- 血管新生誘導性バイオ人工膵を用いた移植前処置の効果ーラット同種膵島移植における検討ー. 顧元駿, 田畑泰彦, 宮本正章, 川上義行, 崔 万興, 今村正之, 長田奈津紀, 佐竹 晃, 岩田博夫, 井上一知 第35回日本

移植学会総会 (1999.9.15.16.17. つくば)

血管誘導を伴うバイオ人工臓の開発に関する検討. 顧 元駿, 宮本正章, 崔 万興, 川上義行, 今村正之, 村上庸能, 岩田博夫, 井上一知 第37回人工臓器学会大会 (1999.10.15.16. 名古屋)

固形癌に対する温度感作法ゾルーゲル総転移型高分子薬物複合体による新しい癌局所療法の開発. 宮本正章, 井上一知, 田守昭浩, 嘉悦 勲 第58回日本癌学会 (1999.9.29.30.10.1. 広島)

新しい膵島細胞凍結障害保護液とバック型凍結プログラムの開発. 宮本正章, 森元良彦, 野澤由香, 許 宝友, A.N.Balamurugan, 吉村滋弘, 田中常雄, 遠山敏弘, 野澤真澄, 井上一知 日本低温医学総会 (1999.11.18. 福岡) ワークショップ 膵保存

SUCCESSFUL SUBCUTANEOUS PANCREATIC ISLET TRANSPLANTATION USING ANGIOGENIC GROWTH FACTOR RELEASING DEVICE. Y. Kawakami, H. Iwata, Y.J. Gu, M. Miyamoto, T. Yamasaki, Y. Murakami, Y. Ikada, M. Imamura, K. Inoue. 7th World Congress of The International Pancreas and Islet Transplant Association (1999.8.22-25 Australia)

DEVELOPMENT OF A NEW IMMUNOISOLATION METHOD FOR XENOTRANSPLANTATION OF PORCINE ISLETS IN RATS. Y.J. Gu, W.X.cui, M. Miyamoto, Y. Kawakami, A.N. Balamurugan, N. Nagata, A. Satake, Y. Morimoto, H. Iwata, K. Inoue. The 5th Congress of the International Xenotransplantation Association (1999.10 Nagoya)

EFFECTIVENESS OF MODIFIED TWO LAYER PRESERVATION METHOD (PEC/KYOTOSOLUTION) IN ISLET ISOLATION OF BREEDER PIGS. M. Miyamoto, Y.J. GU, W. CUI, Y. Kawakami, N. Nagata, A.N. BALAMURUGAN, Y. Morimoto, A. Satake, Y. Suzuki\*, Y. Tanioka\*, Y. Kuroda\* and K. INOUE. 6th Congress of the Asian Society of Transplantation (1999. Singapore)

RECENT ADVANCES IN BIOARTIFICIAL PANCREAS. M. Miyamoto, K. INOUE. The 4th Joint Meeting of German Society for Surgery and Japan Surgical Society (June 19,1999, Kyoto)

OUR STRATEGY OF BIOARTIFICIAL PANCREAS 財団法人京都大学後援会平成11年度助成金短期派遣事業 M. Miyamoto. University of Miami, Diabetes Research Institute, Joint Meeting (Juky 15, 1999, Miami)

## 2) 講演・シンポジウム

人工臓の開発と今後の展望. 井上一知 ラジオ短波医学講座 (1999.11.4)

胆・膵診断の進歩, 膵ラ島移植の現状と今後の展開. 井上一知 ラジオ短波医学講座 (1999.11. 東京)

(特別講演) 膵島移植の現状と展望. 井上一知 第6回大分GUT-Science (1999.5.11. 大分)

わが国における膵島移植の現状と将来展望. 宮本正章, 井上一知, 顧 元駿, 長田奈津紀, A. Baramurugan, 森元良彦, 王 文敬, 川上義行, 山崎 透, 瀬戸山 博, 中井一郎 第6回日本臓器保存生物医学会総会 シンポジウム (1999.5.27.28. 大阪)

脳死者からの臨床膵島移植実施上の問題点. 宮本正章, 顧 元駿, 長田奈津紀, 森元良彦, 王 文敬, 井上一知, Y. Mullen 第24回日本外科系連合学会学術集会 (1999.6.24.25. 神戸)

(特別講演) 膵臓癌外科的治療の現況と展望. 井上一知 第7回南大阪肝胆膵研究会 (1999.7.3. 大阪)

膵島移植の現状と展望 (シンポジウム). 井上一知, 宮本正章 第61回日本臨床外科学会総会 (1999.11.5. 東京)

組織移植医療 この一年の歩み “膵島”. 宮本正章 第7回組織移植医療研究会 (1999.11.13. 大阪) シンポジウム



(特別講演) 再生医学・人工臓器の現状と将来. 井上一知 第91回遠江医学総会 (1999.11.14)

(特別講演) 膵島移植の現況と将来展望. 井上一知 第12回糖尿病談話会 (1999.11. 東京)

## 臓器再建応用分野 Department of Bioartificial Organs

### 【研究概要】

臓器再建応用分野では、全身のあらゆる軟組織、臓器を対象として、自己の細胞が増殖、分化できる足場となる適切な環境を体内に与えることによって、自己の臓器が本来の構造と機能を取り戻して再生復元することを目的としています。

これによって、治療法がない難病患者、人工臓器で延命中の患者、或いは移植ドナーの不足のために死亡している症例の多くが救われ、また、医療費が激減することが予想されます。

研究の方法としては、同種・異種の臓器や組織から精製した細胞外マトリックス、酵素で分解・抽出して完全に免疫原性をなくした蛋白質、生体内で穏和に分解吸収される合成高分子、各種の細胞の増殖成長因子などの材料DDS（薬物送達システム）を組み合わせて、欠落した組織や臓器の再生する足場となる枠組み（細胞外マトリックス）を生体内に作ります。この枠組みを足場として利用して、生体内の幹細胞が増殖、分化し、自己の組織や臓器が再生復元されます。また、幹細胞の分離・増殖を行い組織再生に用いる研究や癒痕状になった細胞外マトリックスを融かして、再び本来の細胞外マトリックスに戻す研究も進めています。

現在行っている研究内容は下記のように分類されます。

- ① 角膜、心膜、胸膜、腹膜、脳硬膜などの膜系
- ② 血管、気管、消化管などの管状臓器
- ③ 外力の加わる組織（永久歯、歯根膜）
- ④ 末梢神経、脊髄などの神経系
- ⑤ 泌尿器系
- ⑥ 肝臓、膵臓、甲状腺、上皮小体、脾臓などの実質性代謝臓器

当分野の研究は、細胞が増殖、再分化して、元の臓器を復元させる仕組み（環境）を人工的に体の中に作れば、哺乳動物の臓器や組織もいもりのように再生復元するというメカニズムを医学に応用するものです。このような研究は、世界的にもほとんど行われていませんが、次世代の医療の中心的柱になると考えられます。



We have devised a completely new approach to the development of artificial organs. The main procedure using tissue engineering for soft tissues involves the removal of the cell component from auto- or allo-organs to obtain only the extracellular matrix, so-called refined extracellular matrix (ECM) and reconstitutes the solid structure from the extracted collagen. This ECM or reconstituted structure is then employed as scaffolding, which after implantation into the patients is used for the regeneration or re-differentiation of tissue. Organs made of self-cells thus regenerate. Organs that regenerate in this manner not only possess highly differentiated tissue structures, but also show functional recovery, because all the cells are derived from the patients themselves. Whether or not our new method is practicable will depend mainly on the intrinsic regeneration capacity of each tissue. Up to now, in higher mammals including man, it has been believed that highly differentiated organs lose their ability to regenerate. We consider that mammals do not, in fact, lose this potential, and that the potential is hidden by excessively rapid wound healing around the failing tissues. In this sense, if we can provide good conditions using refined ECM, we can induce this hidden potential even in higher mammals. We have already carried out successful trials at regenerating peripheral nerves, the esophagus, the trachea, and blood vessels with this method. A similar method is also applicable to other soft tissue organs such as the liver, heart, and lung, as well as the spinal cord. These results will be welcomed by patients who are dependent on palliative life-support systems, or transplantation candidates who are waiting for suitable donors. An additional benefit is that patients will be freed from the side effects of immunosuppressive drugs. The judgment of the brain death can then be discussed separately from the issue of transplantation, and will become a personal problem. Furthermore, this new approach helps to reduce ever-expanding medical costs, which are in danger of destroying our health insurance system in the near future.

No study based on these concepts has ever been done either in Japan or abroad. In this sense, our pioneering work is expected to be a major area of medical science for the coming generation.

#### Strategy of our study

The target organs currently being considered for this development project are the heart, heart valves, esophagus, trachea, peripheral nerves, spinal cord, cornea, tendons, and ligaments. We plan to employ the two major methods as described below.

#### ECM Method

To obtain the purified extracellular matrix, cell components are completely removed from homo or allo-organs. The solid structure is reconstituted from the ECM and extracted collagen. Growth factors are then applied to facilitate cell proliferation. Then this ECM-collagen-growth factor composite is implanted into the living body as a temporary scaffolding for new organ regeneration. Besides this, bioabsorbable materials will also be applied instead of purified ECM as a bulk structure for organ regeneration. Both extracted collagen and growth factors should facilitate cell proliferation and cell redifferentiation, leading to regeneration of organs completely composed of cells derived from patients.

#### Cell+ECM Method

Cells (or living tissues) of patients are complexed (mixed) with purified ECM or bioabsorbable material. Using this complex, reconstruction of the failing tissues or organs will be attempted.

## 【業績目録】

### ● 誌上发表 ●

#### 1) 原著論文

- Role of hemolysis in potassium release by iodinated contrast medium. K. Hayakawa, T. Nakamura, Y. Shimizu. *European Radiology* 9 : 1357-1361, 1999.
- Intrathoracic esophageal replacement in the dog with the use of an artificial esophagus composed of a collagen sponge with a double-layered silicone tube. Y. Yamamoto, T. Nakamura, Y. Shimizu, K. Matsumoto, Y. Takimoto, T. Kiyotani, T. Sekine, H. Ueda, Y. Liu, N. Tamura. *Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery* 118 : 276-286, 1999.
- Automatic Control of Pressure Support Mechanical Ventilation Using Fuzzy Logic. T. Nemoto, G.E. Hatzakis, C. William Thorpe, R. Olivenstein, S. Dial and J.H.T. Bates. *Am J Crit Care Med* 160(8) : 550-556, 1999.
- Facial Nerve Repair Using A Collagen Conduit In Cats. A.K. Kitahara, Y. Suzuki, P. Qi, Y. Nishimura, K. Suzuki, T. Kiyotani, Y. Takimoto, T. Nakamura, Y. Shimizu and K. Endo. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery* 33 : 187-193, 1999.
- コラーゲン加工メッシュ人工気管の開発. 中村達雄 外科 61 (2) : 158-16, 1999.
- Prevention of Postoperative Air Leakage From Lungs Using a Purified Human Collagen Membrane-Polyglycolic Acid Sheet. T. Tsuda, T. Nakamura, Y. Yamamoto, M. Teramachi, T. Kiyotani, Y.H. Lee and Y. Shimizu. *Annals of Thoracic Surgery* 68 : 339-342, 1999.
- A Novel Surgical Material Made From Collagen with High Mechanical Strength-A collagen Sandwich Membrane. K. Matsumoto, T. Nakamura, Y. Shimizu, H. Ueda, T. Sekine, Y. Yamamoto, T. Kiyotani, Y. Takimoto. *ASAIO Journal* 45(4) : 288-292, 1999.
- Experimental replacement of the thoracic esophagus with a bioabsorbable artificial collagen silicone composite tube. Y. Yamamoto, Y. Takimoto, T. Nakamura, H. Ueda, T. Sekine, K. Matsumoto, Y. Shimizu. *ASAIO Journal* 45 : 311-316, 1999.
- Replacement of the tracheobronchial bifurcation by a newly developed Y-shaped artificial trachea. T. Sekine, T. Nakamura, H. Ueda, K. Matsumoto, Y. Yamamoto, Y. Takimoto, T. Kiyotani, Y. Shimizu. *ASAIO Journal* 45(3) : 131-134, 1999.
- In Vivo Evaluation of a Novel Alginate Dressing. Y. Suzuki, M. Tanihara, Y. Nishimura, K. Suzuki, Y. Yamawaki, H. Kudo, Y. Kakimaru, Y. Shimizu. *J Biomed Mater Res* 48 : 522-527, 1999.
- 酸化セルロース線維を混和したスポンジ状コラーゲンの止血材への応用. 山本恭通, 中村達雄, 清水慶彦, 松本和也, 上田寛樹, 劉 愉, 関根 隆, 清谷哲也, 田村暢成 *人工臓器* 28(1) : 217-224, 1999.
- 抽出コラーゲンのみから縫合可能な手術用材料を作成する成型加工法について. 松本和也, 上田寛樹, 関根 隆, 山本恭通, 滝本行延, 清谷哲也, 中村達雄, 清水慶彦 *人工臓器* 28(1) : 211-216, 1999.
- 縦隔臓器の再建・再生. 清水 慶彦 *現代医療* 31(12) : 125-129, 1999.

## 2) 著書および総説

末梢神経の再生. 清水 慶彦 名古屋大学出版会, 上田 実編,

ティッシュ・エンジニアリング—組織工学の基礎と応用 p.186-197, 1999.

Regeneration of the peripheral nervous system by artificial nerve conduit. K. Suzuki, K. Ohnishi, T. Kiyotani, G. Lee, A.K. Kitahara, Y. Suzuki, K. Tomihata, M. Teramachi, Y. Takimoto, T. Nakamura, K. Endo, Y. Nishimura, Y. Shimizu and Y. Ikada. Tissue engineering for therapeutic use 3, Elsevier Science, p.71-76, 1999.

---

## ● 学会等の講演 ●

A new type of artificial esophagus : Intrathoracic esophagus replacement with a collagen sponge - silicone double layer tube. Y. Yamamoto, K. Matsumoto, T. Nakamura, Y. Shimizu. XIIth Aachen colloquium on biomaterials. (1999.2.18-19, RWTH Aachen, Germany)

Detergent Treatment on Canine Tracheal Allograft. Y. Liu, Y. Yamamoto, K. Matsumoto, T. Sekine, H. Ueda, T. Nakamura, Y. Shimizu. 25th Annual Scientific Meeting of the American Society of Transplant Surgeons (1999.5.19-21. Chicago, USA)

Intrathoracic esophageal replacement with a collagen sponge - silicone double layer tube : evaluation of the omental pedicle wrapping. Y. Yamamoto, K. Matsumoto, T. Nakamura, Y. Shimizu. 45th Annual Conference of American Society for Artificial Internal Organs (1999.6.2-5, San Diego, U.S.A.)

Novel Tracheal Prosthesis as an Artificial Trachea and In Vivo Evaluation in Dogs. T. Nakamura, H. Ueda, T. Sekine, K. Matsumoto, Y. Yamamoto, Y. Liu, M. Inoue, N. Tamura, K&Y Suzuki, Y. Takimoto, Y. Shimizu. 45th Annual Conference of American Society for Artificial Internal Organs (1999.6.2-5, San Diego, U.S.A.)

A New Type of Artificial Trachea for Carinal Bifurcation : A Report of Long Time Survival and Histological Examinations. T. Sekine, T. Nakamura, H. Ueda, K. Matsumoto, Y. Yamamoto, Y. Shimizu. 45th Annual Conference of American Society for Artificial Internal Organs (1999.6.2-5, San Diego, U.S.A.)

Use of a Polyglycolic Acid (PGA)-Collagen Tube Filled with Laminin-Coated Collagen Fibers to Assist Regeneration of the Peroneal Nerve Across an 80-mm Gap in Dogs. K. Matsumoto, K. Ohnishi, T. Sekine, H. Ueda, Y. Yamamoto, K. Suzuki, T. Kiyotani, T. Nakamura, K. Endo, Y. Shimizu. 45th Annual Conference of American Society for Artificial Internal Organs (1999.6.2-5, San Diego, U.S.A.)

New Type of Tracheal Bioartificial Organs : Preparation of Tracheal Allograft Using Detergent Treatment. Y. Liu, Y. Yamamoto, K. Matsumoto, T. Sekine, H. Ueda, T. Nakamura, Y. Shimizu. 45th Annual Conference of American Society for Artificial Internal Organs (1999.6.2-5, San Diego, U.S.A.)

Regeneration of the Periodontium on Acellular Matrix Using Detergent Method at Biodental Allo-Implant. M. Inoue, T. Nakamura, Y. Yamamoto, K. Shigeno, Y. Shimizu. XIIth World Congress of the International Society for Artificial Organs (1999.8.3-6, Edinburgh, England)

A Novel Collagen Glue for Surgical Use Made From Porcine Collagen. T. Sekine, T. Nakamura, H. Ueda, Y. Liu, K. Matsumoto, Y. Takimoto, Y. Shimizu. XIIth World Congress of the International Society for

Artificial Organs (1999.8.3-6, Edinburgh, England)

Application of TFG- $\beta$ 1 for Reconstruction of Mandibular Bone Defect. K. Shigeno, T. Nakamura, H. Ueda, Y. Liu, T. Sekine, K. Matsumoto, Y. Yamamoto, M. Inoue, K. Suzuki, M. Yoshitani, N. Toba, M. Inoue, K. Suzuki, Y. Tabata, M. Miyao, Y. Shimizu. XIIth World Congress of the International Society for Artificial Organs (1999.8.3-6, Edinburgh, England)

A "Acellular" Vascular Prosthesis may Provide a Scaffold for the Host Tissue Regeneration. N. Tamura, H. Terai, A. Iwakura, Y. Yamamoto, K. Matsumoto, H. Ueda, M. Inoue, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Komeda. XIIth World Congress of the International Society for Artificial Organs (1999.8.3-6, Edinburgh, England)

Artificial Tracheas and Their Mechanical Properties. S. Kawaguchi, T. Nakamura, Y. Shimizu, T. Masuda, T. Takigawa, Y. Liu, H. Ueda, T. Sekine, K. Matsumoto. XIIth World Congress of the International Society for Artificial Organs (1999.8.3-6, Edinburgh, England)

Peroneal Nerve Regeneration Across 80-mm Gap in Dogs Through a Polyglycolic Acid (PGA)-Collagen Tube. K. Matsumoto, K. Ohnishi, T. Sekine, H. Ueda, Y. Yamamoto, T. Kiyotani, T. Nakamura, K. Endo, Y. Shimizu. XIIth World Congress of the International Society for Artificial Organs (1999.8.3-6, Edinburgh, England)

Development of New Artificial Trachea. T. Nakamura, H. Ueda, Y. Liu, T. Sekine, K. Matsumoto, Y. Yamamoto, M. Inoue, K. Suzuki, M. Yoshitani, N. Toba, M. Inoue, K. Suzuki, K. Shigeno, S. Kawaguchi, Y. Shimizu. XIIth World Congress of the International Society for Artificial Organs (1999.8.3-6, Edinburgh, England)

Y型人工気管を用いた気管分岐部置換実験. 関根 隆, 中村達雄, 松本和也, 劉 愉, 清水慶彦 第52回日本胸部外科学会総会 (1999.10.5-7, 仙台)

気管上皮細胞除去グラフトを用いたイヌ気管同種移植の研究. 劉 愉, 中村達雄, 山本恭通, 松本和也, 関根 隆, 上田寛樹, 吉谷 信, 鳥羽紀成, 清水慶彦 第52回日本胸部外科学会総会 (1999.10.5-7, 仙台)

カラーゲンシーリコン二層管によるイヌ食道15cm の試み. 松本和也, 関根 隆, 山本恭通, 中村達雄, 清水慶彦 第52回日本胸部外科学会総会 (1999.10.5-7, 仙台)

gliotoxin のヒト気管支粘膜上皮傷害作用に対するformoterol の抑制効果. 河南里江子, 中村達雄, 清水慶彦, 渡辺勇夫, 村山尚子, 網谷良一 第43回日本医真菌学会総会 (1999.10.8, 東京)

アテロコラーゲンスポンジからのトランスフォーミング増殖因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)徐放性. 上田寛樹, 山本恭通, 松本和也, 関根 隆, 劉愉, 中村達雄, 田畑泰彦, 清水慶彦 第37回日本人工臓器学会大会 (1999.10.15-16, 名古屋)

Detergent 処理による低免疫原性の人工気管の開発及び応用. 劉 愉, 中村達雄, 山本恭通, 松本和也, 関根 隆, 上田寛樹, 井上祐利, 田村暢成, 清水慶彦 第37回日本人工臓器学会大会 (1999.10.15-16, 名古屋)

人工神経再生チューブを用いた長さ80mmのイヌ脛骨神経の再生について. 松本和也, 大西克則, 関根 隆, 上田寛樹, 山本恭通, 清谷哲也, 中村達雄, 遠藤克昭, 清水慶彦 第37回日本人工臓器学会大会 (1999.10.15-16, 名古屋)

TGF- $\beta$ 1を用いた顎骨の再生修復. 茂野啓示, 中村達雄, 井上祐利, 上田寛樹, 松本和也, 関根 隆, 鈴木義久, 田村暢成, 鈴木京子, 寺井 弘, 劉 愉, 鳥羽紀成, 吉谷 信, 宮尾 学, 田畑泰彦, 清水慶彦 第37回日本

人工臓器学会大会 (1999.10.15-16, 名古屋)

A Treatment for Acute Aortic Dissections with A Novel Cylindrical Balloon catheter. H. Terai, N. Tamura, Y. Yamamoto, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Komeda. American Heart Association (1999.11.7-10, Atlanta, USA)

An Experimental Model of Stanford Type B Aortic Dissection. H. Terai, N. Tamura, S. Yuasa, T. Nakamura, Y. Shimizu. American Heart Association (1999.11.7-10, Atlanta, USA)

A Novel Method to Enhance Sternal Healing after Harvesting Bilateral Internal Thoracic Arteries. A. Iwakura, Y. Tabata, N. Tamura, A. Ikai, T. Nakamura, Y. Shimizu, M. Fujita, M. Komeda. American Heart Association (1999.11.7-10, Atlanta, USA)

両側内胸動脈採取後の胸骨治癒におけるbasic fibroblast growth factor(bFGF)の効果. 岩倉 篤, 田畑泰彦, 田村暢成, 猪飼秋夫, 中村達雄, 清水慶彦, 米田正始 第21回日本バイオマテリアル学会 (1999.11.19, 京都)

## 附属再生実験動物施設

### 【研究概要】

本施設では二つの研究課題を追っている。それらは、(1) ヒトT細胞の増殖制御機構の研究、と(2) ヒト生殖系細胞の増殖・分化制御機構の研究、である。

第一の課題では、ヒトレトロウイルス（HTLV-1）に感染したT細胞が40-50年の経過を経て悪性化増殖能を獲得し白血病細胞となり、成人T細胞白血病（ATL）を発症する機構を細胞培養を基盤に置き、分子生物学的な方法を用いて解析している。正常T細胞は抗原、レクチン刺激により、一時的にIL-2とその受容体（IL-2R）を発現し、一時的に増殖し、継続的に増殖しない。これに対して、HTLV-1に感染しているヒトT細胞はIL-2Rを常時発現しており、IL-2が存在すれば感染細胞の多くは持続的に増殖しIL-2依存性T細胞株となる。我々は既に5株の白血病細胞株を含め50株以上のIL-2依存性T細胞株を樹立してきた。それらの内の幾つかは長期間培養中にIL-2依存性を離脱しIL-2非依存性T細胞株となり、さらにその一部ではヌードマウスやSCIDマウスで腫瘍を形成するようになった。このような観察結果から、HTLV-1感染T細胞は、IL-2依存性増殖相⇒IL-2非依存性増殖相（不死化）⇒造腫瘍能の獲得という段階的な増殖性の進展が生じて悪性化細胞となると考え、現在、種々のT細胞増殖因子（IL-2, -4, -7, -9, -15）を含め増殖因子の白血病成立における役割の解析を増殖因子によるオートクリン増殖が寄与している可能性も視野にいれ、遺伝子導入実験による解析も行っている。また、上記の段階的なT細胞の増殖性の変化が如何なる遺伝子の変化に基づいているかを調べるため、現在、IL-2依存性増殖相⇒IL-2非依存性増殖相（不死化）⇒造腫瘍能の獲得の各段階で変化しているmRNA/cDNAをdifferential display法にて検出、同定し、悪性化増殖と密接に関連している遺伝子の同定を始めている。この課題は遺伝子実験施設の清水教授との共同研究として行っている。

我々の樹立したT細胞株は非常に有用であり、これらの細胞を用いて、チオレドキシン遺伝子、ヒトIL-4、IL-5遺伝子が単離されており、上記のT細胞増殖因子の増殖シグナル伝達に共通に必須であるIL-2R $\gamma$ 鎖を欠いたT細胞も樹立しており、増殖シグナル伝達の研究に活用されており、さらに、これらのT細胞株から未知の生理活性物質の産生の同定が期待される。

第二の課題では、ヒトの卵巣、子宮内膜を構成する細胞の増殖・分化を制御している分子を同定する目的で、これらの細胞を免疫原として単クローン抗体を作成した。各々の細胞に特異的に反応する抗体を作成し、発現している抗原分子を同定し、そこから得られた一次情報からこれらの分子の生理的な役割を解析している。現在まで、種々のメタロ・ペプチダーゼ、幾つかのインテグリン分子、HLA-DR抗原分子などが上記の細胞の機能制御に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。現在、これらの研究をさらに進展させるため、胎仔と母体の結合の場である胎盤のトロフォブラストの役割を単クローン抗体作成により解析している。この課題は1991年頃から本学の産婦人科の藤原浩講師の研究グループとウイルス研究所の上田正道先生との共同研究で行われている。これらの研究による成果の詳細については本年度の論文を参照されたい。

### (Research activity)

We have two independent research projects in our laboratory. One of our research objectives is to

elucidate the mechanism of the malignant transformation of the human retrovirus HTLV-1-infected normal T cells (Adult T cell leukemia : ATL) and we have been engaged in the study these twenty years. Normal T cells express both interleukin 2(IL-2) and its receptor(IL-2R) transiently and proliferate only transiently when activated by antigens or mitogens. However, HTLV-1 infected normal T cells appear to express the interleukin 2(IL-2) receptor constitutively, and they often become to proliferate indefinitely in vitro in the presence of IL-2. Based on these findings we have established more than fifty HTLV-1-infected T cell lines, including 5 leukemic T cell lines, from ATL patients by using IL-2 as a growth factor. Some of them began growing without exogenous IL-2(immortalization), and further acquired tumorigenicity in immune deficient nude mice and SCID mice. From these observations we proposed a stepwise growth progression hypothesis for ATL pathogenesis. Now we have been working to elucidate the molecular events underlining malignant transformation of HTLV-1-infected T cells by using many T cell lines established in our laboratory.

Another research objective is to find out important molecule(s) involved in the growth and differentiation of female reproductive organs and tissues, namely human ovary and endometrium. This research project has been started in 1991 and has been investigated in collaboration with Dr. Hiroshi Fujiwara of the Department of Gynecology and Obstetrics of Kyoto university Medical School. To find out unknown molecules that may be expressed in these tissues, we produced monoclonal antibodies against different kinds of cells constituting these tissues and have identified several important molecules, such as several peptidases, integrins, MHC class II molecules and some non-identified molecules, which play possibly very important physiological role(s). Now we have been trying to produce monoclonal antibodies against trophoblasts, which play important role(s) during fetal development, to investigate the molecular events in materno-fetal interface. Some results of this project are shown in our publication this year.

## 【業績目録】

### ● 誌上発表 ●

#### 1) 原著論文

CD9 is expressed in extravillous trophoblast in association with integrin  $\alpha 3$  and integrin  $\alpha 5$ . T. Hirano, T. Higuchi, M. Ueda, T. Inoue, N. Kataoka, M. Maeda, H. Fujiwara, and S. Fujii. *Mol. Hum. Reprod.*, 5:162-167, 1999.

CD9 is involved in the invasion of human trophoblast-like choriocarcinoma cell line, BeWo cells. T. Hirano, T. Higuchi, H. Katsuragawa, T. Inoue, N. Kataoka, Kyong R Park, M. Ueda, M. Maeda, H. Fujiwara, and S. Fujii. *Mol. Hum. Reprod.*, 5:168-174, 1999.

Induction of B-cell lymphoma in BALB/c nude mice with an ecotropic helper virus present in the MAIDS virus stock. L. Tayar, K. Higo, Y. Kubo, Y. Wang, L.M. Lu, F. Zhang, Y. Iwatani, L. Wang, T. Ono, M. Maeda, H. Sakai, and A. Ishimoto. *J. Virol.*, 73:1640-1644, 1999.

CD9 is associated with integrin  $\alpha 6 \beta 1$  on the cell surface of human granulosa cells. Y. Takao, H. Fujiwara, S. Yamada, T. Hirano, M. Maeda, S. Fujii, and M. Ueda. *Mol. Hum. Reprod.*, 5:303-310, 1999.



- Human granulosa cells express integrin 2 and collagen type IV; possible involvement of collagen type IV in granulosa cell lutenization. S. Yamada, H. Fujiwara, T. Honda, T. Higuchi, T. Nakayama, T. Inoue, M. Maeda, S. Fujii. *Mol. Hum. Reprod.*, 5:607-617, 1999.
- Differential expression of glutaredoxin and thioredoxin during monocytic differentiation. Y. Takashima, K. Hirota, H. Nakamura, T. Nakamura, K. Akiyama, F.S. Cheng, M. Maeda, and J. Yodoi. *Immunol. Lett.*, 68: 379-401, 1999.
- Identification of an adhesion molecule expressed on adult T cell leukemia cells derived from a patient with gastrointestinal involvement: Implication for a possible role of integrin  $\beta 7$  in leukemic cell infiltration. H. Chen, T. Hori, M. Maeda, and T. Uchiyama. *J. Clin. Immunol.*, 19:186-193, 1999.
- Coexpression of integrin associated protein (IAP/CD47) and its ligand thrombospondin-1 on human granulosa and large luteal cells. T. Higuchi, H. Fujiwara, S. Yamada, K. Tatsumi, N. Kataoka, K. Itoh, M. Maeda, J. Fujita, and S. Fujii. *Mol. Hum. Reprod.* 5:920-926, 1999.
- Critical role of the membrane-proximal, proline-rich motif of the interleukin-2 receptor  $\gamma$  c chain in the Jak3-independent signal transduction. S. Tsujino, A. Kawahara, T. Miyazaki, M. Maeda, T. Taniguchi, and H. Fujii. *Genes Cells.* 4:363-373, 1999.

## 2) 著書および総説

- Membrane-bound cell surface peptidases in reproductive organs. H. Fujiwara, K. Imai, M. Maeda, and S. Fujii. *Endocrine J.* 46:11-25, 1999.

## ● 学会等の講演 ●

### 1) 学会・研究会発表

- Trial to establish an autocrine growth circuit by introducing IL-15 cDNA into HTLV-1-infected T cell lines established from ATL patients. M. Maeda, Y. Agata, A. Ishimoto, and A. Shimizu. Twentieth Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Disease. May 26, 1999. Marrakech, Morocco.
- 黄体形成期のヒト顆粒膜細胞におけるインテグリン  $\alpha 2$  とIV型コラーゲンの発現に関する検討. 山田成利, 藤原 浩, 樋口寿宏, 中山貴弘, 前田道之, 藤井信吾 第51回日本産婦人科学会学術講演会, 1999年4月10日, 東京都
- マウス胸腺細胞の胚着床の促進効果. 藤田一之, 中山貴弘, 藤原 浩, 樋口寿宏, 藤田 潤, 前田道之, 藤井信吾 第51回日本産婦人科学会学術講演会, 1999年4月10日, 東京都
- マクロファージの分化におけるレドックス制御蛋白グルタレドキシシンおよびチオレドキシシンの発現. 高島裕一郎, 広田喜一, 中村 肇, 前田道之, 淀井淳司 第29回日本免疫学会総会・学術集会, 1999年12月2日, 京都市

## 4. 学術集会

### 4-1 研究発表会

第13回京都大学再生医科学研究所内医工学若手研究発表会 (1999.3.19)

発表者	所属	演題
1. 小野 貞 治	シミュレ	ポリビニルアルコール／ポリウレタンブレンドの抗血栓性
2. 日下 純	生体機械	硬い材料を用いる人工膝関節の潤滑解析
3. Paek, Hyun Joon	生体材料	Immortalization of Porcine Hepatocytes by Transfection with Simian Virus 40T Antigen
4. 浦川 隆 史	組織再生	犬骨頭表面置換術における Stress Shielding の研究
5. 川上 義 行	器官形成	膝島細胞皮下移植法の確立；血管誘導性増殖因子を用いた検討
6. 仲瀬 祐 志	生体材料	経口ドラッグデリバリーシステムを用いた実験大腸炎マウスの腸管免疫担当細胞に対する選択的制御の試み
7. 門野 邦 彦	医用シス	ヘリカル構造を有するポリ乳酸組織のビエゾ特性
8. 上田 寛 樹	臓器再建	癌遺伝子変異解析からのヒト異物肉腫発生機序の検討
9. 高 寅 甲	生体材料	セルロース中空糸の表面処理による細胞接着性の付与
10. 二階堂 崇之	組織再生	人大腿骨頸部骨折の解析
11. 山本 雅 哉	生体材料	種々の細胞増殖因子のゼラチンヒドロゲルからの徐放化
12. 劉 愉 峰	臓器再建	Canine Traheal Allotransplantation without Immunosuppressant
13. 姜 有 峯	シミュレ	軽度架橋 UHMWPE の圧縮変形による物性変化
14. 宮尾 肇 学	生体材料	bFGFによるマトリゲル中での脂肪組織の再生
15. 西 啓 次	組織再生	射出成型による PVA-H の力学的特性に関する基礎的研究
16. Md. Muniruzzman	生体材料	Electrophoretic Evaluation of Charge Characteristics of bFGF after Complexation with Gelatin
17. 大西 克 則	臓器再建	改良型人工神経管によるネコ坐骨神経の再生
18. 大橋 美奈子	医用シス	電子線による UHMWPE の改質
19. 小川 晃 平	生体材料	3次元構造マトリックスを用いた肝細胞移植
20. 松本 和 也	臓器再建	80mmのイヌ坐骨神経再生の試み
21. 保坂 泰 介	組織再生	脂肪肉腫における TLS-CHOP 遺伝子のゲノムレベルでの切断解析
22. 北倉 隆 寛	医用シス	超高分子量ポリエチレン (UHMWPE) の疲労耐久性に関する研究
23. 関戸 宏 明	生体機械	軟組織の2次元変位測定用プローブの開発
24. 松村 和 明	シミュレ	人工歯根材料としてのエチレンービニルアルコール共重合体の表面処理
25. 河合 勝 也	生体材料	人工真皮に対する bFGF 投与効果
26. 山本 博 史	組織再生	ヒト骨肉腫における SV40-like sequence の検索
27. 平田 伊佐雄	生体材料	新しい表面プラズモン解析装置の開発
28. 仲俣 岳 晴	組織再生	第3染色体上の癌抑制遺伝子候補の検索
29. 太田 信 子	シミュレ	軽度架橋 UHMWPE の耐摩耗性
30. 鈴木 京 子	臓器再建	PGA-コラーゲン複合チューブによる末梢神経再生について一早期再生過程の観察一
31. 洪 流	生体材料	Long-term Evaluation of the Rabbit Skull Bone Regeneration by Slow Release of TGF $\beta_1$ from a Biodegradable Hydrogel
32. 許 宝 友	器官形成	抗補体新しい合成化合物の膝島細胞に及ぼす影響
33. 関根 隆 介	臓器再建	Y型人工気管による気管分岐部再建
34. 坂本 靖 介	生体材料	小腸移植モデルにおける FK-506 マイクロスフェアの効果に関する研究
35. 村上 弘 昭	組織再生	骨芽細胞株の形質転換における遺伝子発現の変化
36. 吉田 宏 昭	シミュレ	皮膚縫合に関する3次元解析
37. 大幡 里 絵	医用シス	再現性のよい骨粗鬆症モデルの作成
38. 藤村 健 治	生体材料	乳酸カプロラクトン共重合体多孔質膜を用いた膵癒着防止材への応用
39. 川口 智 潔	臓器再建	人工気管の力学特性に関する研究
40. 葭 仲 一郎	生体機械	振動による摩擦力の制御
41. 上田 勇 一郎	生体材料	バイオ人工肝灌流培養時のアミノ酸代謝
42. 小林 正 典	組織再生	PVA-H の各種特性とその整形外科的応用
43. 顧 元 駿	器官形成	血管新生を伴うバイオ人工膝に関する検討一同系及び同種ラット膝島移植における効果一
44. 車 源 日	生体材料	分散重合法によるポリ乳酸の合成
45. 河南 里江子	臓器再建	アスペルギルス分生子のヒト気道粘膜上皮への侵入機序の検討
46. 光 成 淳 史	組織再生	骨粗鬆症大腿骨頭海綿骨の破壊挙動
47. 原田 恭 治	医用シス	衝撃荷重による軟膏の破壊に関する研究
48. 茂野 啓 示	臓器再建	Growth factor (TGF $\beta_1$ ) を用いた再生及び再建に関する研究
49. 村上 能 庸	生体材料	ポリ (2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸) グラフト化表面と補体との相互作用
50. 孕 石 佳 久	組織再生	犬用人工椎間板の力学的特性評価

発表者	所属	演題
51. 水野 慎一	シミュレ	生体内分解吸収性高分子としてのポリカーボネート類の合成と物性
52. 安川 力	生体材料	高分子修飾による血管新生抑制物質TNP-470の脈絡膜血管新生に対するターゲティング療法
53. 渡辺 雄祐	組織再生	関節軟骨対PVA-Hの潤滑特性
54. 服部 耕治	医用シス	吸収性骨固定紐の開発
55. 杉之下 与志樹	生体材料	配位結合を介したプルランを用いた interferon のマウス肝へのターゲティング
56. 服部 耕治	医用シス	骨折仮固定材（ナイロストラップ）の開発
57. 牛尾 一康	組織再生	PVAH-TFM 複合材料による大腿骨頭壊死症の治療
58. 莫 秀梅	生体材料	Hemostatic Agent Preparation from Modified Gelatin and Polysaccharides
59. 木下 直子	器官形成	Genetic and Tissue Engineering using M1N6
60. 森 浩二	生体機械	ステントに関する研究
61. 大脇 久敬	生体材料	血管形成術のためのステント留置術後血管再狭窄防止を目的としたアルガトロバン徐放型ステントの開発
62. 山本 恭通	臓器再建	カラーゲンスポンジシリコン2層管を用いた胸腔内食道置換と大網被覆の効果

## 4-2 セミナー

日時	講師 所属	演題	セミナー名	主催分野
1999. 1. 12	田中 啓二 東京都臨床医学総合研究所	ユビキチンとプロテアソーム	第78回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学
1999. 1. 19	大隅 良典 岡崎国立共同研究機構 基礎生物学研究所	オートファジー研究の新しい展開 細胞内バルクなタンパク質の 分解機構	第79回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学
1999. 1. 26	安保 徹 新潟大学医学部	胸腺外 T 細胞の分化と機能	特別セミナー	再生免疫学
1999. 1. 29	伊川 友活 京都大学再生医科学研究所 島田 義也 放射線医学総合研究所 柿沼志津子 放射線医学総合研究所 佐渡 敏彦 大分県立看護科学大学	マウス胎仔肝臓における造血肝細胞の 系列決定と分化機序の解析 マウスX線誘発胸腺リンパ腫に診られ る第11番染色体の LOH マウス胸腺リンパ腫における ikaros 発現異常と突然変異 放射線による胸腺リンパ腫誘発の系統 間差異とその細胞レベルでの要因解析	免疫学セミナー	再生免疫学
1999. 2. 16	二宮 善文 岡山大学医学部	基底膜の機能と関連疾患の関わり	第 80 回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
1999. 3. 1	赤木 玲子 岡山県立大学保健福祉学部	臓器障害とヘム代謝	老化生物学セミナー	再生誘導研究
1999. 3. 16	Konrad Beck Univ. Medicine and Dentistry of New Jersey, USA	Stability and Folding of Collagen Model Peptides	第 81 回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学
1999. 3. 25	岩倉 洋一郎 東京大学医科学研究所	細胞表層分子をめぐるいくつかの面白い 話題ー発生工学手法による解析からー	再生医科学研究所 セミナー	再生実験動物施設
1999. 3. 29	細野 正道 新潟大学大学院自然科学研究科	胸腺の発達と免疫	老化生物学セミナー	再生誘導研究
1999. 3. 29	James C. Thompson The Univ. of Texas, School of Medicine, USA	臓器再生に関する研究の進歩		器官形成応用
1999. 5. 13	吉川 研一 京都大学理学部	生命現象の物理学	ランチャイムセミナー	組織修復材料学
1999. 5. 25	Germerrad WTV Univ. Hospital Utrecht	Phage antibody display technology:a toolbox to study human dendritic cell differentiation	免疫学セミナー	再生免疫学
1999. 5. 27	片岡 一則 東京大学工学系研究科	ドラッグデリバリーにおけるバイオマテ リアル設計	ランチャイムセミナー	組織修復材料学
1999. 6. 21	川名 明夫 拓殖大学工学部	微細加工技術の神経科学への応用	ランチャイムセミナー	組織修復材料学

日時	講師 所属	演題	セミナー名	主催分野
1999. 6. 21	Medvinssky A The Univ. of Edinburgh	Development of the definitive haematopoietic stem cell	免疫学セミナー	再生免疫学
1999. 8. 9	Nutt S The Wellcome/CRC Inst. of Cambridge Univ. UK	The role of Pax5 in B lineage commitment	免疫学セミナー	再生免疫学
1999. 9. 4	Bekturov Esen カザフスタン国立化学研究所	Complexes of Hydrogels	特別セミナー	組織修復材料学
1999. 9. 14	池田 通 東京医科歯科大学医学部	転写因子 Ikaros family の多様な機能	免疫学セミナー	再生免疫学
1999. 9. 28	佐々木隆子 Max-Planck Institute, Germany	エンドスタチン-ヘパリン結合性と血管新生抑制-	第 82 回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学
1999. 10. 8	早瀬 尚文 久留米大学医学部	巨人 (タイタン) に襲われた死神	特別講演会	再生増殖制御学
1999. 10. 20	ピエルベナム グルノーブル大学	臨床臍島移植におけるヒト臍島大量分離法の開発・検討	特別講演会	器官形成応用
1999. 10. 26	米田 悦啓 大阪大学医学研究科 中野 明彦 理化学研究所	核-細胞質間機能分子輸送のメカニズム- 細胞内メンブレントランフィック-小胞による選別輸送の分子機構	第 83 回細胞生物学 ジョイントセミナー	細胞機能調節学
1999. 11. 1	和田 忠士 東京工業大学生命理工学 研究科	DSIF と NELF による RNA ポリメラーゼ II の転写伸長反応制御	第 84 回 細胞生物学セミナー	細胞機能調節学
1999. 12. 6	Ulrich F. Hartl Max-Planck Institute, Germany	Chaperone-assisted protein folding in vivo and in vitro	再生医科学研究所 ・ウイルス研究所合同 セミナー	細胞機能調節学
1999. 12. 9	井街 宏 東京大学医学系研究科	超人工臓器・人工臓器は生体臓器を超えられるか	特別講演会	生体機械工学
1999. 12. 10	Stephan M. Perren	Changes in the Biomechanical View of Internal Fixation of Fractures	外部評価特別講演会	
1999. 12. 15	清水 千織 千葉大学医学研究科	1ck proximal promoter の活性調節と細胞周期	免疫学セミナー	再生免疫学

### 4-3 学術講演会, シンポジウム, 研究会

#### 第26回日本臨床バイオメカニクス学会 (1999.11.6-7 国立京都国際会館)

会長: 岡 正典

演題数: 139 題 (参加 300名)

シンポジウム: 関節の潤滑機構

教育研修講演:

Anterior cruciate ligament rupture and osteoarthritis	Eric L. Radin (元ヘンリーフォード医学センター所長)
Changes in the biomechanical views of internal fixation of fractures	S. Perren (スイスAO研究所長)
Lubrication and wear of artificial and natural joints	J. Fisher (Leeds 大学教授)

## 第21回日本バイオマテリアル学会大会 (1999.11.19-20 京都リサーチパーク)

会長：岡 正典

演題数：125題 シンポジウム：12 題 (参加 420名)

シンポジウム：関節の修復, 再生医工学

特別講演：

Articular Cartilage repair-Can  
it be realized?

Dr. Mainil-Varlet (ベルリン大学)

## 第9回 Kyoto T Cell Conference (1999.10.8,9. 京大会館, 主催：再生免疫学)

10.8.

## Session I. Progenitors

座長： 中内啓光

1. パイエル板誘導細胞 (IL-7R $\alpha$ +L $\alpha$ T $\alpha$  $\beta$ ) の発生分化について
2. 血液・血管内皮細胞系譜の分化決定
3. 胸腺中に存在する DC と T 系列へ分化する bipotent progenitor
4. TCR $\beta$ 鎖の多様性獲得のための前駆細胞の増殖

吉田尚弘<sup>1</sup>, 端 裕之<sup>1</sup>, 本田賢也<sup>1</sup>, 西川里美<sup>1</sup>, 西川伸一<sup>1</sup>, 河本 宏<sup>2</sup>, 桂 義元<sup>2</sup>, Sybil M. Santee<sup>3</sup>, Carl F. Ware<sup>3</sup> (<sup>1</sup>京大・医・分子遺伝, <sup>2</sup>京大・再生研・免疫, <sup>3</sup>La Jolla Institute, Mol. Biol.)

小川峰太郎 (京大・院医・分子遺伝)

沈 恵卿, 河本 宏, 伊川友活, 勝部好裕, 陸 敏, 桂 義元 (京大・再生研・免疫)

河本 宏, 藤本真慈, 伊川友活, 大村浩一郎, 桂 義元 (京大・再生研・免疫)

## Session II. Differentiation

座長： 垣生園子, 生田宏一

1. 胸腺内T細胞の機能的成熟の分子機構
2. lck proximal promoter の活性調節と細胞周期
3. T細胞の分化と PI3 キナーゼ
4. Tリンパ球分化における ASK1 キナーゼの生体内機能
5. T細胞の増殖・分化におけるIL-7 レセプターのシグナル分子の機構
6. Stat5 による TCR $\gamma$  遺伝子の germline 転写誘導：IL-7 レセプターによる TCR $\gamma$  遺伝子座の accessibility 調節機構

佐藤健人<sup>1</sup>, 布村 聡<sup>1</sup>, 長谷川千巳<sup>1</sup>, 林啓太郎<sup>2</sup>, 佐竹正延<sup>2</sup>, 垣生園子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東海大・医・免疫, <sup>2</sup>東北大・加齢医学研・免疫遺伝子制御)

清水千織<sup>1,3</sup>, 山下政克<sup>2</sup>, 谷口 克<sup>1,3</sup>, 中山俊憲<sup>1,3</sup> (<sup>1</sup>千葉大院・免疫発生, <sup>2</sup>千葉大・医・分子免疫, <sup>3</sup>科技団・CREST)鈴木春巳<sup>1</sup>, 藤原真理<sup>1</sup>, 寺内康夫<sup>1</sup>, 門脇 孝<sup>2</sup>, 小安重夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>慶応大・医・微生物, <sup>2</sup>東大・医・3内)原 剛彦<sup>1</sup>, 一条秀憲<sup>2</sup>, 高浜洋介<sup>1,3</sup> (<sup>1</sup>徳島大・ゲノム機能研, <sup>2</sup>東京医歯大・歯, 第2理工, <sup>3</sup>科技団・さががけ)李海天<sup>1</sup>, Sang-Kyu Ye<sup>1</sup>, 北村俊雄<sup>2</sup>, 生田宏一<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京大・医・分子生物, <sup>2</sup>東大・医科研・造血探索)Sang-Kyu Ye<sup>1</sup>, 李海天<sup>1</sup>, 北村俊雄<sup>2</sup>, 生田宏一<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京大・医・分子生物, <sup>2</sup>東大・医科研・造血探索)

## Session III. Migration of progenitors

座長： 山元 弘

1. GFP マウスを用いた造血幹細胞からT細胞系分化への解析
2. マウス胸腺への細胞移行に関する接着分子の解析

土岐純子, 金鉄南, 高瀬勝教, 池原 進 (関西医大・第一病理)

坂根直樹, 川上直人, 辻川和丈, 山元 弘 (大阪大・院薬・細胞生理)

## Session IV. 活性化と機能

座長： 徳久剛史, 鏑田武志

1. non-CD28 分子のT細胞活性化への副刺激誘導機構
2. キラーリンパ球活性化における LFA-1/DNAM-1 接着分子複合体の役割
3. Bcl6 の Th2 リンフォカイン産生制御機構の解析
4. B細胞膜蛋白質分子 CD72 の B細胞活性化の制御機構
5. トランスジェニックマウスを用いたT細胞における TIAP の機能解析
6. スカベンジャー受容体クラス B I 型 (SR-BI) とリンパ球

八城有美, 周 旭宇, タイ旭光, Park Cheung Seog, 濱岡利之, 藤原大 (大阪大・医・バイオセ・腫瘍発生)

渋谷 彰<sup>1</sup>, 渋谷和子<sup>1</sup>, J. H. Phillips<sup>2</sup>, L. L. Lanier<sup>2</sup>, 中内啓光<sup>1</sup> (<sup>1</sup>筑波大・基礎医学系・免疫, <sup>2</sup>DNAX Research Institute)有馬雅史<sup>1,2</sup>, 外山博近<sup>1,3</sup>, 小島聡子<sup>1</sup>, 市井啓仁<sup>1,3</sup>, 岡田誠治<sup>1</sup>, 幡野雅彦<sup>1</sup>, 福田 健<sup>2</sup>, 徳久剛史<sup>1</sup> (<sup>1</sup>千葉大院・医・分化制御, <sup>2</sup>濁協医大・アレルギー内科, <sup>3</sup>神戸大院・医・外科1)安達貴弘<sup>1</sup>, 若村千里<sup>1</sup>, 矢倉英隆<sup>2</sup>, 鏑田武志<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東京医科歯科大・難研・免疫, <sup>2</sup>東京都神経研)

幡野雅彦, 疋田 聡, 小笠原猛, 大滝雅之, 小林弘一, 岡田誠治, 徳久剛史 (千葉大院・医・分化制御)

岸 裕幸, 冬俊傑, 近藤佐千子, 村口 篤 (富山医科薬科大・医・免疫)

## Session V. TCRによる抗原認識

座長： 湊 長博

1. 新しいタイプのマウス Invariant V $\alpha$ 14<sup>+</sup>T細胞の同定と反応性の検討

八木淳二<sup>1</sup>, Umberto Dianzani<sup>2</sup>, 加藤秀人<sup>1</sup>, 五字 弘<sup>1</sup>, 岡本俊宏<sup>3</sup>, 有村 祐<sup>1</sup>, 内山竹彦<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東京女医大・微生物免疫学, <sup>2</sup>Dept.

2. ヒト  $\gamma\delta$  T細胞の抗原認識様式

3. HIVgp160 特異的 TCR トランスジェニックマウスの抗原認識における TCR  $\alpha$  鎖の重要性

SessimVI. シグナル

1. T細胞抗原受容体シグナル伝達における Gab2 の役割
2. カルシニューリン活性化による IL-4R 受容体シグナル伝達系への Jak3/STAT5経路のリクルート
3. GEM/Raft を介した T細胞活性化機構 I. 変異型 Lck 分子の GEM/Raft への局在
4. GEM/Raft を介した T細胞活性化機構 II. フォスファターゼの GEM/Raft への集積によるシグナル伝達反応の変化
5. T細胞の IL-2 産生のシグナル伝達の老化に伴う変化の解析

SessionVII. NK/NKT

1. CD3 $\zeta$ 鎖による NK 細胞 Fc $\gamma$  R IIIの新たな発現制御機構
2. NK1. 1 $^+$   $\gamma\delta$  型 T細胞上に発現する Ly49C分子の胸腺における down regulation
3. ZAP-70 KO マウス由来胸腺内 NK 様細胞からの NKT 細胞の誘導
4. 胸腺内における p-T/NK bipotent progenitor の p-Tおよび p-NK へのコミットメント

SessionVIII. 癌化の機構

1. 放射線誘発胸腺リンパ腫における T細胞分化因子 Ikaros の発現異常
2. がん抑制遺伝子 PTEN の T細胞における役割

SessionIX. Selection/tolerance

1. ヒト胸腺 T細胞の positive selection のシグナルについて
2. 抗原量, T-APC 反応接続時間と T細胞分化
3. AML1 転写因子は末梢 T細胞のホメオスタシス維持に機能する
4. class II MHC 結合能欠損 mutant ヒト CD4 を発現するトランスジェニックマウス
5. CD25 $^+$ 4 $^+$  T細胞による自己寛容維持機構の分子の基礎

SessimX. Environment and differentiation

1. 正常胸腺上皮細胞の aly マウス胸腺内注入による NKT 細胞の誘導
2. 腸管上皮間 T細胞 (IEL) の発達分化と cryptopatches
3. T細胞の分化を調節する破骨細胞分化因子 (RANKL) のアイソフォーム

SessionXI (15.50-16.40) Thymic environment

1. マウス胎仔胸腺における皮質・髄質上皮細胞の発生

Med. Sci., Univ. of Torino, <sup>3</sup>東京女医大・歯・口外)

田中義正, 湊 長博 (京大院・生命科学科・生体制御)

横須賀忠<sup>1</sup>, 高瀬 完<sup>1</sup>, 高橋秀実<sup>2</sup>, 荒瀬 尚<sup>1</sup>, 齊藤 隆<sup>1</sup> (<sup>1</sup>千葉大・院医・遺伝子制御, <sup>2</sup>日本医大・微生物免疫)

座長: 中山俊憲

山崎 晶<sup>1</sup>, 西田圭吾<sup>2</sup>, 日比正彦<sup>2</sup>, 平野俊夫<sup>2</sup>, 齊藤 隆<sup>1</sup> (<sup>1</sup>千葉大・院医・遺伝子制御, <sup>2</sup>大阪大・医・バイオ・腫瘍病理)

山下政克<sup>1</sup>, 中山俊憲<sup>2</sup> (千葉大・<sup>1</sup>医・分子免疫, <sup>2</sup>院・免疫発生)

安田好文<sup>1</sup>, 小杉 厚<sup>2</sup>, 林 文枝<sup>2</sup>, 永福正和<sup>2</sup>, 榎本美貴<sup>2</sup>, 清岡利之<sup>1</sup> (大阪大・医・<sup>1</sup>バイオセ・腫瘍発生, 喉嚨学科)

小杉 厚<sup>1</sup>, 坂倉純子<sup>1</sup>, 安田好文<sup>2</sup>, 林 文枝<sup>1</sup>, 木村恵利香<sup>1</sup>, 濱岡利之<sup>2</sup> (阪大・医・<sup>1</sup>保健学科, <sup>2</sup>バイオセ・腫瘍発生)

田村敏生, 成内秀雄 (東大・医科研・アレルギー)

座長: 小安重夫

荒瀬 尚, 末永忠広, 木村善光, 椎名律子, 荒瀬規子, 大野博司, 齊藤 隆 (千葉大・院医・遺伝子制御)

西村仁志, 原 徹, 吉開泰信 (名大・病態研・生体防御)

岩淵和也<sup>1</sup>, 岩淵千雅子<sup>1</sup>, 刀祿さおり<sup>1</sup>, 伊藤大祐<sup>1</sup>, 根岸 泉<sup>2</sup>, 小笠原一誠<sup>3</sup>, 小野江和則<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大・免疫研・病理, <sup>2</sup>群馬大・医・皮膚科, <sup>3</sup>滋賀医大・医・第2病理)

伊川友活, 河本 宏, 藤本真慈, 桂 義元 (京大・再生研・免疫)

座長: 仲野 徹

柿沼志津子<sup>1</sup>, 島田義也<sup>2</sup> (放医研・<sup>1</sup>国際宇宙線医学研センター, <sup>2</sup>第3グループ)

鈴木 聡<sup>1</sup>, 仲野 徹<sup>1</sup>, Tak Wah Mak<sup>2</sup> (<sup>1</sup>大阪大・微研・遺伝子動態, <sup>2</sup>オンタリオ癌研, アムジェン研)

座長: 坂口志文, 佐竹正延

棚橋雅行, 横山智輝, 藤井義敬 (名市大・医・第2外科)

中田有紀子, 中川憲一, 蓼沼磨貴, 鈴木 元 (放医研・放射線障害医療部)

林啓太郎<sup>1</sup>, 夏目和歌<sup>1</sup>, 垣生園子<sup>2</sup>, 高浜洋介<sup>3</sup>, 佐竹正延<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東北大・加齢研, <sup>2</sup>東海大・医, <sup>3</sup>徳島大・ゲノム)

先浜俊子<sup>1</sup>, Mary Hunsicker<sup>2</sup>, Rebecca Hessey<sup>2</sup>, Ellis Reinherz<sup>2</sup> (<sup>1</sup>京大・再生研・生体機能調節, <sup>2</sup>Dana-Farber Cancer Institute)

高橋武司<sup>1</sup>, 田上智行<sup>2</sup>, 坂口志文<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京大・再生研・生体機能調節, <sup>2</sup>都老人研・免疫病理)

座長: 石川博通

小西 純, 岩淵和也, 阿戸 孝, 岩淵千雅子, 小野江和之, 小野江和則 (北大・免疫研・病理)

鈴木健司, 石丸 薫, 浜田裕公, 一松 収, 石川博通 (慶応大・医・微生物)

池田 通, 広川勝彦 (東京医科歯科大・医・感染免疫病理)

(座長: 小野江和則, 広川勝彦)

糸井マナミ<sup>1</sup>, 塚本紀之<sup>1</sup>, Willem van Ewijk<sup>2</sup>, 雨具 孝<sup>1</sup> (<sup>1</sup>明治鍼灸大・鍼灸・免疫微生物, <sup>2</sup>Dept. Immunol., Erasmus University)

- |   |  |
|---|--|
| <p>2. マウス胸腺上皮細胞の MHC class II 複合体から分離される CLIP のモチーフと MHC class II 拘束性抗原提示における Ii 鎖のプロセッシングについて</p> <p>3. 胸腺内における T 細胞の増殖・分化を制御する新しい物質の探索</p> <p>4. ナーシング胸腺上皮細胞 (TEC) のアポトーシス胸腺リンパ球認識機構</p> <p>5. A vasculature associated extracellular matrix-related network identified by phage display antibodies</p> | <p>笠井道之, 水落利明 (感染研・細菌血液製剤)</p> <p>宇津山正典, 白石惇一, 広川勝昱 (東京医科歯科大・医・感染免疫病理)</p> <p>平峯千春<sup>1</sup>, 井町仁美<sup>2</sup>, 村尾孝児<sup>2</sup>, 中川利孝<sup>3</sup> (香川医大・<sup>1</sup>健康科学, <sup>2</sup>第1内科・機器セ)</p> <p>Y. Jiang<sup>1,2</sup>, W.T.V. Germeraad<sup>3</sup>, W. SaVino<sup>4</sup>, W. Chen<sup>1</sup>, and W. van Ewijk<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Beijing Medical Univ. <sup>2</sup>P.R.China, Erasmus Univ. <sup>3</sup>Univ. Utrecht, the Netherlands, <sup>4</sup>Inst. Oswald Cruz, Foundation Oswaldo Cruz, Brazil)</p> |
|---|--|

## 5. 協議員・教職員名簿

### ◆ 京都大学再生医科学研究所協議員 ◆

竹 市 雅 俊 (京都大学大学院生命科学研究科教授)  
中 尾 一 和 (京都大学大学院医学研究科教授)  
西 川 伸 一 (京都大学大学院医学研究科教授)  
升 田 利史郎 (京都大学大学院工学研究科教授)  
荒 木 光 彦 (京都大学大学院工学研究科教授)  
塩 田 浩 平 (京都大学大学院医学研究科教授)

### ◆ 京都大学再生医科学研究所職員 (平成12年3月1日現在) ◆

所 長 山 岡 義 生

#### ■ 生体機能学研究部門 ■

##### 〈細胞機能調節学分野〉

教授：永田和宏 助手：中井 彰，細川暢子 講師(非常勤)：中野明彦，米田悦啓，林 利彦 技官：  
島田道子 事務補佐員：上田玉美

##### 〈生体微細構造学分野〉

教授：鈴木康弘 講師：平芳一法 講師(非常勤)：花田敬吾，樋口京一 技官：小岸久美子

##### 〈生体機能調節学分野〉

教授：坂口志文 研究支援推進員：神谷きみ子 技能補佐員：石田嘉子

##### 〈シミュレーション医工学分野〉

教授：堤 定美 助教授：玄 丞然 講師(非常勤)：南部敏之 非常勤研究員：彭 春岩，中島直喜  
教務補佐員：吉田宏昭，太田 信 事務補佐員：上村幸代，布施晴香

##### 〈生体再建学分野(客員)〉

教授：矢原一郎 助教授：近藤 淳

#### ■ 生体組織工学研究部門 ■

##### 〈生体分子設計学分野〉

教授：開 祐司 助教授：宿南知佐 技術補佐員：濱島久美子

##### 〈組織修復材料学分野〉

教授：岩田博夫 助教授：田畑泰彦 講師(非常勤)：宇山良公，内田恵美子，尾形 栄



事務補佐員：鈴木義子，高崎みゆき

〈生物物性学分野（客員）〉

教授(併)：近藤隆彦

---

■ 再生統御学研究部門 ■

〈発生分化研究分野〉

教授：中辻憲夫 助教授：齋藤哲一郎 事務補佐員：廣瀬恭子

〈再生誘導研究分野〉

教授：笹井芳樹 助教授：細川昌則 助手：河崎洋志 講師(非常勤)：馬場満男，北戸春雄 技官：  
松下隆壽 非常勤研究員：岸 将史 研究支援推進員：松田園子，渡辺知子 技術補佐員：片山由紀  
子，中野由香里，西山あやか，中谷 仁 技能補佐員：池田容子 事務補佐員：湯浅貴子

〈再生増殖制御学分野〉

助教授：芝本雄太 講師(非常勤)：早淵尚文

〈再生免疫学分野〉

教授：桂 義元 助教授：喜納辰夫 助手：藤本真慈 講師(非常勤)：佐渡敏彦，高沖宗夫，河本  
宏 技官：高沖悠子 技能補佐員：中川澄江

---

■ 生体システム医工学研究部門 ■

〈医用システム工学分野〉

助教授：富田直秀 リサーチアソシエイト：慕 鷹

〈生体機械工学分野〉

教授：池内 健 助手：都賀谷紀宏 事務補佐員：林 宏美

〈再生医工学分野(外国人客員)〉

教授：崔 壽昌

---

■ 再生医学応用研究部門 ■

〈組織再生応用分野〉

教授：岡 正典 助教授：戸口田淳也 講師(非常勤)：速水 尚 事務補佐員：安田尚代

〈器官形成応用分野〉

教授：井上一知 助教授：宮本正章 講師(非常勤)：塚田敬義，野澤真澄，角昭一郎，中井一郎，藤沢  
章 研究支援推進員：野澤由香 事務補佐員：安田美保

〈臓器再建応用分野〉

教授：清水慶彦 助教授：中村達雄 講師(非常勤)：早川克己 リサーチアソシエイト：大西克則，  
清水基行，山本雅哉 技術補佐員：藤高実江子，西川裕美 事務補佐員：矢延聡枝

---

■ 附属再生実験動物施設 ■

施設長事務取扱(兼)：山岡義生    助教授：前田道之    講師(非常勤)：仲野 徹    技官：出口央士  
研究支援推進員：安岡倉一，岸本好子，人見博子，高橋一郎    技能補佐員：山尾勝美，古卿智英，中野  
孝

〈電子顕微鏡室〉

技官：増田 稔

〈研究室〉

技官：本間トキエ，今井保代

---

■ 事務部 ■

事 務 長：大内 忠

庶 務 掛 長：井上清史    主任：野田敬子    事務官：木戸場大輔

研究協力掛長：服部新次    主任：吉田善弘    事務官：幸 俊烈    事務補佐員：中瀬安子，能田直子

会 計 掛 長：大谷敏美    主任：野村真由美    事務官：戸嶋充雄    事務補佐員：三上素子

---

*Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences*  
*Kyoto University 1999*

京都大学再生医科学研究所年報 1999

2000年3月20日 印刷 2000年3月30日 発行

発行 京都大学再生医科学研究所

京都市左京区聖護院川原町53 〒606-8507

印刷 (有) 津田印刷

---



